



HAL
open science

Impacts directs, indirects et transgénérationnels d'un mélange de perturbateurs endocriniens chez le rat

Marie Darracq-Ghitalla-Ciock

► **To cite this version:**

Marie Darracq-Ghitalla-Ciock. Impacts directs, indirects et transgénérationnels d'un mélange de perturbateurs endocriniens chez le rat. Physiologie [q-bio.TO]. Université Grenoble Alpes [2020-..], 2023. Français. NNT : 2023GRALV038 . tel-04627609

HAL Id: tel-04627609

<https://theses.hal.science/tel-04627609>

Submitted on 27 Jun 2024

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

THÈSE

Pour obtenir le grade de

DOCTEUR DE L'UNIVERSITÉ GRENOBLE ALPES

École doctorale : CSV- Chimie et Sciences du Vivant
Spécialité : Physiologie-Physiopathologies-Pharmacologie
Unité de recherche : Laboratoire d'ECologie Alpine

Impacts directs, indirects et transgénérationnels d'un mélange de perturbateurs endocriniens chez le rat

Direct, inter and transgenerational impacts of an endocrine disruptor mixture on rats

Présentée par :

Marie DARRACQ--GHITALLA-CIOCK

Direction de thèse :

Stéphane REYNAUD
PROFESSEUR DES UNIVERSITES, Université Grenoble Alpes
Karine COUTURIER
MAITRE DE CONFERENCES, Université Grenoble Alpes

Directeur de thèse

Co-encadrante de thèse

Rapporteurs :

Catherine VIGUIE
DIRECTRICE DE RECHERCHE, INRAE centre Occitanie-Toulouse
Yann VOITURON
PROFESSEUR DES UNIVERSITES, Université Lyon 1 - Claude Bernard

Thèse soutenue publiquement le **1 juin 2023**, devant le jury composé de :

Stéphane REYNAUD PROFESSEUR DES UNIVERSITES, Université Grenoble Alpes	Directeur de thèse
Catherine VIGUIE DIRECTRICE DE RECHERCHE, INRAE centre Occitanie-Toulouse	Rapporteuse
Yann VOITURON PROFESSEUR DES UNIVERSITES, Université Lyon 1 - Claude Bernard	Rapporteur
Isabelle GUILLEMAIN MAITRE DE CONFERENCES, Université Grenoble Alpes	Examinatrice
Jennifer RIEUSSET DIRECTRICE DE RECHERCHE, INSERM délégation Auvergne-Rhône-Alpes	Examinatrice
Jean-Baptiste FINI PROFESSEUR DES UNIVERSITES, Muséum National d'Histoire Naturelle	Examineur
Hervé DUBOCHAUD PROFESSEUR DES UNIVERSITES, Université Grenoble Alpes	Président

Invités :

Karine Couturier
MAITRE DE CONFERENCES, Université Grenoble Alpes



Avant-propos

Cette thèse, déposée à l'École Doctorale Chimie et Sciences du Vivant (EDCSV) de l'Université Grenoble-Alpes (UGA), décrit les travaux effectués au sein du Laboratoire d'Ecologie Alpine (LECA), du Laboratoire de Bioénergétique Fondamentale et Appliquée (LBFA), du Grenoble Institut des Neurosciences (GIN) et de l'Institut pour l'Avancée des Biosciences (IAB). Cette thèse fait partie du projet interdisciplinaire SYMER (pour "A Systems approach to new paradigms in Metabolic and epigenetic Regulation") et est financée par l'initiative d'excellence (IDEX) de l'Université Grenoble-Alpes. Les expérimentations sur le cerveau et le comportement ont été financées par la Fondation Rovaltain. Les travaux ont donné lieu à 7 communications orales : 3 lors des séminaires du projet SYMER à l'IAB (2019, 2020, 2021), lors du séminaire annuel du LECA (2022), sur invitation pour l'équipe Cibles de maladies humaines de l'IAB (2022), lors des Assises de Nutrition (2022), lors d'un congrès international de physiologie comparative (APS 2022) dont l'abstract a été récompensé par un "travel-award". Les travaux ont également donné lieu à 2 communications affichées et une "communication flash" lors d'un congrès national en nutrition (JFN 2021) et d'un congrès national en santé et environnement (SFSE 2022). Cette thèse a été couplée d'une activité complémentaire d'enseignement sur l'UFR de Chimie et Biologie de l'UGA ainsi que d'un poste d'Attaché Temporaire en Enseignement et Recherche, rattaché à l'UFR de Pharmacie de l'UGA. Elle a également été l'occasion de participer à l'encadrement de 9 stages : 2 stages de niveau BTS, 2 stages de 1^{ère} année de licence, 3 stages de 3^{ème} année de licence, un stage de première année de Master et un stage de 2^{ème} année de Master.



Remerciements

Je tiens tout d'abord à remercier les membres du jury, **Catherine Viguié** et **Yann Voituron** d'avoir accepté de rapporter cette thèse ainsi que **Jennifer Rieusset**, **Isabelle Guillemain** et **Jean-Baptiste Fini** d'avoir accepté de l'examiner et de l'évaluer.

A mes directeurs de thèses, je souhaite tout simplement dire : merci.

Karine, merci d'avoir été là de A à Z. Ton implication pour tes étudiants et ta rigueur pédagogique m'ont permis d'apprendre toujours plus et de me surpasser. Merci de m'avoir aidé, même les week-ends, à prendre soin des animaux et de t'être libérée sur l'entièreté de tes matinées pendant 2 ans afin de faire toutes les dissections, je sais maintenant qu'il est extrêmement compliqué pour un enseignant-chercheur d'être à ce point disponible. Merci aussi d'avoir été là dans les moments de joies comme dans les moments les plus difficiles où, ensemble, on se demandait comment on allait tenir, d'avoir été une encadrante de thèse mais également un soutien dans les difficultés que la vie nous amène. J'ai eu une chance incroyable de te rencontrer, de te connaître et d'avoir travaillé avec toi.

Stéphane, merci de m'avoir proposé de participer à ce projet dingue (mais je n'en attendais pas moins de ta part). Tu m'avais déjà encadrée sur une thèse (mais une thèse de pharmacie ... ça compte un peu, mais pas trop quand même). Eh bien voilà ! La boucle est bouclée ! C'est maintenant le tour de la thèse de science (la vraie, l'unique). Merci de ton implication sur ce projet et nos débats scientifiques. Merci aussi d'avoir trouvé le temps d'être là sur ces derniers parcours universitaires, du master 2 en passant par ces deux thèses. C'était "rigolo".

Je tiens également à remercier quelqu'un, un peu dans l'ombre, mais qui a pourtant joué un rôle incroyable dans ce projet. **Hervé**, merci. Merci tout d'abord pour ta disponibilité. Pendant 2 ans, chaque matin, tu as extrait les mitochondries et c'est grâce à toi que nous avons d'aussi beaux résultats. Mais ta disponibilité ne s'arrête

pas là, ton aide précieuse et ta connaissance scientifique nous ont permis de mener au mieux l'ensemble des expérimentations. Il aurait peut-être fallu que je change de bureau, vu le temps que je passais à te poser mille et une questions. Merci d'avoir pris le temps d'y répondre et de m'avoir donné les clés pour mener à bien ce projet. Merci aussi pour tes conseils et tes encouragements quand ma vie a basculé. Je sais maintenant que la thèse est bien plus qu'un projet scientifique, c'est un moment de transition, de compréhension et de réflexion sur ce que nous sommes.

Merci à **Isabelle** pour l'ensemble de son travail au GIN et qui nous a permis de mener à bien les études sur le cerveau et le comportement. Ça a été un plaisir de venir te voir et de t'aider sur ce projet. Tu m'as appris énormément de choses sur un sujet extrêmement complexe et tes conseils m'ont permis de questionner de la meilleure des manières mes résultats. Merci aussi pour nos discussions pendant des heures le midi sur la science, le métier d'enseignant-chercheur, l'enseignement, ... et tout un tas d'autres sujets. Il faudrait vraiment qu'on se fasse cette sortie sushis avec Karine!

Merci à **Cécile Batandier** qui nous a aidés sur le développement de ce projet. On n'était pas loin d'optimiser les mitochondries sur plaque et j'étais très heureuse de partager mes premières expériences de thèse avec toi. Merci pour ta connaissance scientifique incroyable et ton travail. Tu es une ressource rare.

Merci à **Jean-Marc Moulis** de nous avoir conseillé sur les premières expérimentations et de nous avoir aidé à optimiser les mitochondries sur plaque. Je te souhaite de nouveau une belle retraite.

Merci également à **Isabelle Hininger-Favier** pour ta disponibilité, tes conseils et pour l'ensemble des expériences sur les mesures de stress ox. Merci aussi pour les nombreux débats scientifiques que nous avons eus, toujours très intéressants.

Merci à **Damien Roussel** d'avoir accepté d'évaluer mon travail lors des différents CSI qui se sont malheureusement fait en visio à cause de la crise sanitaire.

Merci également à **Uwe** pour ton accueil et nos discussions sur l'avancement du projet.

Comme j'ai travaillé dans de nombreux laboratoires, je vais commencer par la "maison" : le LBFA. Merci tout d'abord à **Cindy**, on a campé dans l'animalerie pendant 2 ans (et pas qu'un peu) et c'était cool d'avoir fait une colocation avec toi dans cet environnement un peu coupé du monde. La qualité de ton travail et ta disponibilité font que tous ces projets ne pourraient se faire sans toi. Ton attention pour les animaux m'a permis de travailler au mieux avec eux, et toujours dans la bonne humeur. Merci à **Amel**. Sans toi je me serais noyée dans les bouteilles de 5L d'eaux polluées, dans les broyats infinis de foie, et j'en passe. Mille mercis pour ta disponibilité, ta rigueur et ta gentillesse. Merci à **Fred** pour ta disponibilité et d'avoir accepté de faire toutes les mesures d'oxygraphie de ce projet. C'est bon, tu peux maintenant chanter la reine des neiges sur le chemin du RU. Oui, c'est bien fini, promis! Merci à **Régis** ou plutôt le Macgyver du LBFA. On aura tenté de ces trucs! Entre les séparateurs de cage, les bacs de congélations à séparation, ... et même un tire-lait pour rate (on n'a toujours pas réussi, malheureusement, mais il y a de l'idée). Merci pour ta bonne humeur et ta disponibilité au quotidien. Merci à **Thibault** qui a été là sur les 2 premières années de cette thèse et qui nous a énormément aidés sur la gestion des animaux. On a bien rigolé et je te souhaite le meilleur pour la suite.

Alaa, it has been a pleasure to be your neighbor. Thank you for your help on the oxygraphy. Thank you for your kindness, even if I was always rushing at my desk now and then. Merci à **Nour**, j'étais tellement heureuse de partager ce projet avec toi. Tu es quelqu'un d'extraordinaire et je te souhaite plein de bonheur pour la suite. Merci à **Martin**, pour nous avoir aidé sur les mitochondries et pour la rigolade. Je te souhaite le meilleur pour la suite. Merci à **Bilgehan** pour les premiers mois de thèse, ta présence était plus que bienvenue, bon courage pour ta soutenance. Merci à **Quentin**, tu t'es joint à l'aventure un peu plus tard mais je te souhaite bon courage pour cette fin de thèse. Merci également à **Roland**, je suis heureuse de t'avoir rencontré, tu es quelqu'un d'inspirant, passionné par la science. C'est incroyable d'avoir autant d'énergie et tu as été une inspiration pour la fin de cette thèse. Merci à **Emily**, désormais au CEA. Je te souhaite tout le meilleur, tu es une perle rare. Merci pour ton aide sur les dosages d'insuline. Merci à **Edwige** pour l'organisation impeccable et tes moments conseils sur les 2 premières années de cette thèse. Merci à **Clovis** pour tes conseils précieux sur le RNAseq. Je suis heureuse d'avoir pu te rencontrer et te

souhaite tout le meilleur pour tes projets futurs. En espérant te recroiser.

Merci également à **tous les autres membres du LBFA** pour leur accueil. Je vous souhaite plein de belles choses pour la suite.

Après la maison, il y a la "résidence (ou plutôt le laboratoire) secondaire" de l'autre côté de la route : le LECA.

Merci à **Sylvie**. C'est à chaque fois un réel plaisir de travailler et discuter avec toi de sciences ou de tout un tas d'autres choses (on ne va pas se mentir, on dérive souvent ...). Merci de nous avoir aidés sur ce projet qui était aussi un challenge pour toi. J'espère que le retour sur l'aquatique ne va pas te rendre nostalgique des ron-geurs. Sinon, quand est ce qu'on va se boire un verre? Y en a marre des pauses thé de Steph'!

Merci à **Delphine** et **Christian** pour votre implication dans ce projet sur le microbiote et votre rigueur. Merci à **Christelle** qui m'a accompagnée sur l'ATER. Merci pour ton dévouement auprès des étudiants et ta pédagogie. L'importance de savoir coder et de maîtriser les statistiques est une nécessité et je suis heureuse d'avoir pu participer à ce renouveau pédagogique dans les études de santé avec toi. Merci à **Florence** sans qui je serais actuellement perdue dans une paperasse infinie. Merci à **Clément** pour les analyses informatiques du microbiote. Merci à **Fred** pour la bonne humeur apportée à chaque visite dans le bureau.

Merci à mes collègues, et désormais amis : "son éminence, le professeur **Sylvain Moinard**" (oui, oui! C'est écrit, désolée, y a plus de retour en arrière). J'attends ton prochain post-it sur mon bureau. J'espère que cette fois ce sera une blague de qualité. Merci à **Rémy**, maître des orangers et des moutons (ou ananas, on ne sait plus). Hâte de remonter les colliers GPS des ananas (ou moutons?) avec toi. Merci à **Tiphaine**, éleveuse de plantes et cultivatrice de moustiques. Promis, vu que tu ne seras pas là pour la soutenance, il n'y aura pas de chartreuse. Merci aussi à **Stephen**, courage pour la suite jeune padawan. Hâte du prochain JDR (en espérant que Tiphaine ne saute pas sur les ours en peluche ...). Merci également à **Marion**, je te souhaite plein de courage pour la suite de ta thèse. Merci à **Louis** qui nous fait rire au quotidien, "tu es vraiment une belle personne, des bisous".

Enfin, merci à **tous les autres membres du LECA** que j'ai croisés dans les couloirs, qui m'ont aidée de près ou de loin, qu'on a retrouvé autour d'un verre, ... Je vous souhaite plein de belles choses pour la suite.

Deux laboratoires ça ne suffit pas. Pour un peu plus d'exotisme il fallait quand même sortir du campus de science et voyager sur le campus santé. Tout d'abord au GIN : merci à **Emel** pour ta participation aux expérimentations en plus des expériences de ta thèse. C'était un plaisir de te rencontrer et j'espère que tout se passe au mieux pour toi. J'espère un jour recroiser ton chemin. Merci également à **Lucile** que j'ai croisée peu de temps mais qui a également été d'une aide précieuse. Merci à **Olivier** pour son travail formidable sur les IRM ainsi que l'ensemble de tes conseils sur l'utilisation de ton programme. Je te souhaite plein de belles choses pour la suite. **Merci aux animaliers du GIN et aux autres personnes impliquées sur ce projet.**

Sur mon chemin, j'ai pu faire quelques détours par l'IAB. Merci à **Emeline** pour ton investissement en plus de ton travail sur la partie reproduction masculine de ce projet. Ton attrait pour la science donne envie d'aller fouiller et chercher dans les moindres recoins. J'étais contente de parler de testicule avec toi (oui, oui) ou bien même de science en générale. Merci à **Florent** pour tes conseils et ton travail sur la partie ARN et ADN. Je te souhaite le meilleur pour la suite. Merci à **Olivier**, ancien colocataire des années de Master 2. Ca faisait plaisir de te revoir dans les couloirs !

Merci également à **l'ensemble du personnel de l'institut de biologie et pathologie** du Centre Hospitalier et Universitaire de Grenoble pour leur participation à ce projet. Merci également aux personnes provenant de d'autres laboratoires et qui ont participé à ce projet : merci à **Guillaume** pour ton implication, notamment sur les western-blots et les mitochondries. Ca n'aurait pas été entièrement un projet du LBFA sans ton implication. Merci à **Jonathan** pour tes conseils sur le RNAseq. C'était un réel plaisir de te rencontrer.

Merci à l'ensemble de mes stagiaires : à **Camille Roche-Pinault**, on se sera au moins musclée à soulever des cages et on aura bien rigolé après le covid. Merci

à **Camille Deltombe**, la bonne humeur incarnée, toujours prête à aider et qu'on a toujours hâte de revoir. *To Charlotte Hodgson, thank you for your help, I wish you the best.*

Merci à la team de stagiaires de choc (aka les "minions") avec qui on aura bien rigolé : Merci à **Salomé Repellin**, la rigueur incarnée et pour qui j'ai désormais une confiance aveugle. Merci à **Thomas Monot**, à quand la prochaine rumeur qu'on lance dans le LBFA? Merci à **Aurore Boulas**, je suis heureuse de savoir que tu as pu partir faire les études que tu voulais, tu seras une excellente kiné. Merci à **Zoé Daverio-Fege** et ta bonne humeur quotidienne. Merci à **Finn**, tu n'étais pas mon stagiaire officiellement mais tu nous as beaucoup aidé.

Merci à **Océane Reiss**, tu ne seras pas ma dernière stagiaire, comme on l'avait dit, mais merci d'avoir été là sur la fin de ma thèse. Ton orchidée est toujours en vie. Je te souhaite le meilleur pour la suite, mais bon j'espère qu'on se revoit bientôt! Merci à **Aliénor Coquereau**, tu commenceras ton stage au moment où je soutiendrai cette thèse, et quoi de mieux que de finir avec une étudiante de la Faculté de Pharmacie d'Angers (aka la maison mère). Merci de m'aider à conclure ce projet, j'espère que tu apprécieras ton stage.

Merci également aux stagiaires avec qui je n'ai pas travaillé mais qui ont participé à la bonne ambiance générale aussi bien au labo que dehors : **Antoine** et **Quentin** (à quand notre prochaine excursion montagnarde?), **Florine**, **Gauthier**, **Baraa**, **Nathan** et **Jonas**.

There are times in life when you meet people at the least expected moment. Thank you Nikita, meeting you and having you as an intern was the best thing that happen during this time of my life. Thank you for your incredible help on this project. Thank you for your way of seeing life and your support. I wish you all the best in Nantes and I'm so lucky to have met you.

Merci à **Marie**, "ze best of ze best", toi-même tu sais. Au moment où j'écris ceci, je n'ai en ligne de mire que le moment où on pourra se poser autour d'un verre en se disant que ça y est, on a fini nos thèses. Hâte de faire ce trek au Portugal et de pouvoir visiter la Corrèze (lieu emblématique, que dis-je, légendaire depuis que je t'ai rencontré). Merci d'avoir été là, tu es une personne incroyable et je suis heureuse

d'avoir fait ces 5 dernières années avec toi à Grenoble. Je te souhaite tout le meilleur pour la suite.

Merci également à **Alexis** et **Laura**. Je suis heureuse de vous avoir rencontrés. Par contre, je n'aime toujours pas le volley, les jeux de société (quand Alexis ne triche pas) c'est mieux. Merci pour les moments de rigolades qu'on s'est tapé ces dernières années. Je vous souhaite à tous les deux le meilleur pour vos prochaines aventures.

Merci à **Marie** (la 2^{ème} du nom, il n'y a jamais trop de Marie) pour nos routes qui se sont souvent croisées au fil de nos thèses respectives. Je te souhaite bon courage pour finir ta thèse et j'espère pouvoir venir te faire coucou à la Réunion.

Merci à **Philippe**, loin des yeux mais près du cœur comme on dit. Merci pour ton soutien même depuis le pays des frites. Hâte de te revoir!

Merci à l'équipe du Mans, **Etienne** et **Alexis** pour les retrouvailles au moment des vacances scolaires. Merci à **Valentin** pour m'avoir accompagné pendant un peu moins de 2 ans sur cette thèse. Merci pour ton soutien constant et je te souhaite le meilleur pour tes nouvelles aventures mancelles. Merci également à **Anne** et **Lise** pour nos discussions et votre soutien. Hâte de rentrer pour se faire un tea o'clock.

Merci à **Gaspard**, surtout pour ces derniers mois d'écriture. Tu es un soutien incroyable et j'ai hâte de commencer cette aventure à deux. La vie a un goût plus doux avec toi et est une comédie musicale permanente. *Para bailar la bamba ...*

Merci à ma **Pap's** qui tente dès que possible de nous rappeler que la vie n'est pas devant nos écrans mais plutôt dehors.

Merci à ma sœur, **Jeanne**. Je suis tellement impressionnée par ce que tu fais et tellement fière de toi. Merci d'avoir été là en toute circonstance. Tu es une personne essentielle à ma vie. Merci aussi à **Léo**, je te souhaite bon courage pour ta thèse.

Pour finir, merci à mes parents, **Pierre** et **Corine**. Vous êtes des personnes passionnantes, passionnées, incroyables et vous m'avez tant appris. Sans vous je n'en serai pas là. Vous m'avez donné les clés et les chances de pouvoir réussir en toute circonstance et pour ça je ne vous remercierai jamais assez. Je vous aime.

Table des matières

Avant-propos	iii
Remerciements	v
Liste des abréviations	xxxiii
I Introduction	1
1 Polluants et santé	3
1.1 Prise en compte de l'impact des polluants sur la santé	3
1.1.1 Une problématique nouvelle	3
1.1.2 Polluants et système hormonal	5
1.2 Avant propos sur les hormones	6
1.2.1 Généralités	6
1.2.1.1 Mécanismes d'action	9
1.3 Les perturbateurs endocriniens	12
1.3.1 Sources	12
1.3.2 Mécanismes d'action	13
1.3.2.1 De l'importance de la dose	14
1.3.2.2 De l'importance du cocktail	16
1.3.2.3 De l'importance du moment de vie	18
1.3.3 Modèle d'exposition	21
1.3.3.1 Bisphénol S	21
1.3.3.2 Triclosan	24
1.3.3.3 Méthylparabène	25
2 Métabolisme énergétique	31
2.1 Fonctionnement général	31
2.1.1 Généralités	31

2.1.2	La mitochondrie	32
2.1.3	Obésité	34
2.1.3.1	Physiopathologie	34
2.1.3.2	Obésité et PE	35
2.2	Le foie	36
2.2.1	Atteintes hépatiques	38
2.2.2	Atteintes hépatiques et PE	38
2.3	Le pancréas	40
2.3.1	L'insuline	41
2.3.2	Le glucagon	43
2.3.3	Autres hormones régulant la glycémie	45
2.3.4	Diabète	46
2.3.4.1	Physiopathologie	46
2.3.4.2	Diabète et PE	47
3	Cerveau, neuroendocrinologie et comportement	53
3.1	Constitution et protection du système nerveux central	53
3.2	Le développement cérébral	58
3.3	Le télencéphale : physiologie et fonctionnement des différentes structures	58
3.4	Le diencephale : zoom sur l'axe hypothalamo-hypophysaire	62
3.4.1	L'axe thyroïdienne	64
3.4.2	L'axe gonadotrope	65
3.4.3	L'axe somatotrope	66
3.4.4	L'axe corticotrope	67
3.4.5	L'axe lactotrope	67
3.5	Troubles du comportement et PE	69
3.5.1	Hyperactivité	69
3.5.2	Anxiété pathologique	70
3.5.3	Dépression	72
4	Systèmes reproducteurs	77
4.1	Reproduction masculine	77

4.1.1	Généralités	77
4.1.2	La cellule de Sertoli	78
4.1.3	La spermatogenèse	80
4.1.4	Contrôle endocrinien de la spermatogenèse	80
4.2	Reproduction féminine	82
4.2.1	L'ovaire	82
4.2.2	Cycle menstruel	83
4.2.3	Particularités chez le rongeur	85
4.3	Les particularités de la grossesse	87
4.3.1	Le placenta	87
4.3.2	L'allaitement	88
4.4	Infertilité	91
4.4.1	Physiopathologie	91
4.4.2	Fertilité, gestation et PE	92
	Problématiques et objectifs	99
	II Matériel et méthodes	101
	5 Modèle d'exposition	105
5.1	Mélange de PE	105
5.2	Validation du modèle d'exposition	106
5.2.1	Contamination externe due aux plastiques	106
5.2.2	Interactions contenant-contenu	106
5.2.3	Test d'appétence	106
	6 Expérimentations	109
6.1	Animaux	109
6.1.1	Modèle transgénérationnel	111
6.1.2	Reproduction	114
6.2	Tests in vivo	115
6.2.1	Suivi de la glycémie gestationnelle	115
6.2.2	Test de tolérance au glucose	116

6.2.3	Test de tolérance à l'insuline	116
6.2.4	Tests comportementaux	117
6.2.4.1	Test de l' <i>open field</i>	117
6.2.4.2	Test de l' <i>elevated plus maze</i> (EPM)	118
6.2.4.3	Test de Porsolt ou de nage forcé	118
6.3	Euthanasies	119
6.3.1	Décapitation	120
6.3.1.1	Mâles F0 et femelles F0 à F3	120
6.3.1.2	Test de charges en insuline (mâles F1 à F3)	121
6.3.1.3	Exsanguination	121
6.3.1.4	Perfusion intra-cardiaque	122
6.4	Mitochondries	123
6.4.1	Extraction des mitochondries hépatiques	123
6.4.2	Exploration de la respiration des mitochondries hépatiques	123
6.4.3	Exploration de la production de dérivés réactifs de l'oxygène par les mitochondries hépatiques	125
6.5	Dosages	128
6.5.1	Contenu protéique	128
6.5.2	Paramètres sanguins	128
6.5.3	Insuline	129
6.5.3.1	Préparation des échantillons	129
6.5.3.2	Dosage ELISA	129
6.5.4	Glycogène tissulaire	130
6.5.5	Lipides tissulaires	131
6.5.6	Citrate synthase	131
6.5.7	Stress oxydant	132
6.5.7.1	Dosage des thiols	132
6.5.7.2	Dosage des FRAP	133
6.5.7.3	Dosage des TBARS	134
6.5.7.4	Dosage de la GPx	134
6.6	Western blots	135
6.6.1	Signalisation de l'insuline	135

6.6.1.1	Préparation des échantillons	135
6.6.1.2	Migration, transfert et marquage	136
6.6.1.3	Analyse	137
6.6.1.4	Stripping	137
6.6.2	Mesures de l'expression des complexes de la chaîne respira- toire sur mitochondries isolées	137
6.6.2.1	Préparation des échantillons	137
6.6.2.2	Migration, transfert et marquage	137
6.6.2.3	Analyse	138
6.7	Histologie	138
6.7.1	Préparation des échantillons	138
6.7.2	Coloration hématoxyline éosine (HE)	139
6.8	Imagerie par résonance magnétique (IRM)	139
6.9	Séquençage ARN	140
6.10	Analyses statistiques	142
6.10.1	Test exact de Fisher	142
6.10.2	Wilcoxon	142
6.10.3	ANOVA à 2 facteurs	142
6.10.4	ANOVA à 1 facteur ou Kruskal-Wallis	143
III	Métabolisme énergétique	145
7	Métabolisme énergétique - Résultats	149
7.1	Impacts des PE sur la prise de poids et la prise alimentaire	149
7.1.1	Chez les femelles	149
7.1.2	Chez les mâles	152
7.2	Impacts des PE sur le métabolisme autour de la gestation	152
7.2.1	Impacts des PE sur la glycémie gestationnelle	152
7.2.2	Impacts des PE sur la glycémie des femelles post-allaitement	153
7.2.3	Impacts des PE sur la composition corporelle <i>post-partum</i> et post-allaitement	153
7.3	Impacts des PE sur le métabolisme post-allaitement	158

7.3.1	Impacts des PE sur le poids au moment du sevrage	158
7.3.2	Impacts des PE sur le raton sevré	159
7.3.2.1	Sur la composition corporelle	159
7.3.2.2	Sur les paramètres sanguins	163
7.3.2.3	Sur le tissu hépatique	163
7.3.2.4	Sur la gestion des substrats énergétiques	166
7.3.2.5	Sur le fonctionnement mitochondrial hépatique et le stress oxydant	170
7.4	Impacts des PE sur le métabolisme de l'adulte	174
7.4.1	Sur la composition corporelle	174
7.4.2	Sur les paramètres sanguins	179
7.4.3	Sur le tissu hépatique	181
7.4.4	Sur la gestion des substrats énergétiques	183
7.4.4.1	Test de tolérance au glucose et à l'insuline	183
7.4.4.2	Glycémie et insulinémie à jeun	187
7.4.4.3	Dosage de l'insuline pancréatique	187
7.4.4.4	Sensibilité des récepteurs à l'insuline	188
7.4.4.5	Dosage du glycogène hépatique et musculaire	188
7.4.4.6	Dosage des triglycérides hépatiques et musculaires	188
7.4.5	Sur le fonctionnement mitochondrial hépatique et le stress oxydant	192
7.4.5.1	Densité mitochondriale	192
7.4.5.2	Respiration et production de ROS par la mitochondrie hépatique	192
7.4.5.3	Expression des complexes de la chaîne respiratoire mitochondriale	197
7.4.5.4	Dosage des paramètres du stress oxydant	199
7.4.6	Sur l'expression des gènes hépatiques	199
7.4.6.1	Analyse générale des données	199
7.4.6.2	Modification de l'expression des voies biologiques	200
7.4.6.3	Modification de la transcription des gènes associés aux diabètes	207

7.4.6.4	Modification de la transcription des gènes associés aux pathologies hépatiques	210
7.4.6.5	Modification de la transcription des gènes associés aux pathologies métaboliques	215
8	Métabolisme énergétique - Discussion	217
8.1	PE et prise de poids : pas de corrélation avec la prise alimentaire	217
8.2	Diabète gestationnel et métabolisme post-partum : peu d'impact des PE	222
8.3	PE et allaitement : prise de poids au moment du sevrage	222
8.4	PE et insulino-résistance : un impact direct et indirect tardif?	224
8.5	Impact des PE sur le muscle	225
8.6	PE et mitochondries hépatiques : une modification de la structure mi- tochondriale	227
8.7	Impact des PE sur la structure du tissu hépatique : effet dose dépen- dant?	230
8.8	Conclusion de l'impact des PE sur le métabolisme	231
IV	Cerveau, neuroendocrinologie et comportement	233
9	Cerveau, neuroendocrinologie et comportement - Résultats	237
9.1	Impacts des PE sur la surrénale et la thyroïde	237
9.1.1	Poids des surrénales	237
9.1.1.1	Chez le raton	237
9.1.1.2	Chez le rat adulte	237
9.1.2	Dosages sanguins	239
9.1.2.1	Impact direct	239
9.1.2.2	Impact indirect	239
9.1.2.3	Impact transgénérationnel	239
9.2	Impact des PE sur le comportement	241
9.2.1	Impact sur l'activité locomotrice	241
9.2.2	Impact sur l'anxiété	241
9.2.3	Impact sur la dépression	241
9.3	Impacts des PE sur le cerveau	241

9.3.1	Poids du cerveau	241
9.3.1.1	Chez le raton	241
9.3.1.2	Chez le rat adulte	245
9.3.2	Volume du cerveau mesuré par IRM structurale	246
9.3.2.1	Chez le raton	246
9.3.2.2	Chez le rat adulte	246
9.3.3	Volume des aires cérébrales	247
9.3.3.1	Impact direct	247
9.3.3.2	Impact indirect	249
9.3.3.3	Impact transgénérationnel	249
10	Cerveau, neuroendocrinologie et comportement - Discussion	255
10.1	Impact direct des PE sur les surrénales sans modification du comportement anxieux	256
10.2	Absence d'impact des PE sur l'humeur et l'axe thyroïdienne	259
10.3	Exposition aux PE et hyperactivité	261
10.4	Impact transgénérationnel des PE sur les structures cérébrales : quelles conséquences comportementales?	262
10.5	Conclusion de l'impact des PE sur le cerveau, la neuroendocrinologie et le comportement	265
V	Système reproducteur	267
11	Système reproducteur - Résultats	271
11.1	Impact des PE sur le développement des organes reproducteurs	271
11.1.1	Impact des PE sur l'appareil reproducteur masculin	271
11.1.1.1	Impact sur le poids des testicules	271
11.1.1.2	Impacts sur le poids de l'épididyme	273
11.1.2	Impact des PE sur l'appareil reproducteur féminin : poids des ovaires	273
11.2	Impact des PE sur la fertilité	274
11.2.1	Fertilité masculine	274
11.2.1.1	Dosage de la testostérone	274

11.2.1.2	Histologie des testicules	274
11.2.2	Fertilité féminine	274
11.3	Impact des PE sur la gestation	276
11.3.1	Temps de gestation	276
11.3.2	Nombre de petits par portée et sexe-ratio	276
12	Système reproducteur - Discussion	279
12.1	Impact des PE sur la fertilité masculine	279
12.2	Impact des PE sur la fertilité féminine	280
12.3	Conclusion de l'impact des PE sur la reproduction	283
VI	Discussion générale et perspectives	285
13	Discussion générale	291
13.1	Rappel des objectifs de la thèse	291
13.2	Rappels des résultats selon les problématiques abordées	291
13.2.1	Problématique de la dose	291
13.2.2	Problématique de l'effet cocktail	295
13.2.3	Problématique de l'impact direct, multi et transgénérationnel	298
14	Perspectives de la thèse	303
14.1	Métabolisme énergétique	303
14.2	Neurodéveloppement	304
14.3	Système reproducteur	305
14.4	Perspectives générales	306
14.4.1	Microbiote intestinal et PE	306
14.4.2	Prolactine, métabolisme osseux et PE	306
14.4.3	Méthylome et PE	307
	Conclusion	309

Annexes	311
Annexe 1 - Gènes hépatiques différentiellement transcrits pour les mâles F0 du groupe LD	313
Annexe 2 - Gènes hépatiques différentiellement transcrits pour les mâles F0 du groupe HD	319
Annexe 3 - Gènes hépatiques différentiellement transcrits pour les mâles F1 du groupe LD	333
Annexe 4 - Gènes hépatiques différentiellement transcrits pour les mâles F1 du groupe HD	341
Annexe 5 - Gènes hépatiques différentiellement transcrits pour les mâles F3 du groupe LD	351
Annexe 6 - Gènes hépatiques différentiellement transcrits pour les mâles F3 du groupe HD	359
Bibliographie	367

Table des figures

1	Organes et hormones	7
2	Récepteurs hormonaux	10
3	Modèle de Clark	12
4	Evolution de la théorie d'occupation	14
5	Courbes effet-doses selon différentes théories	15
6	Courbes effet-doses possibles pour un cocktail	17
7	DOHaD, perturbateurs endocriniens et métabolisme	18
8	Epigénétique	20
9	Cibles potentiels du bisphénol A	22
10	Impacts potentiels du bisphénol A sur la biosynthèse des hormones stéroïdiennes	23
11	Schéma simplifié de la stratégie énergétique du corps	32
12	Complexes de la chaîne respiratoire mitochondriale	33
13	Structure du tissu hépatique	37
14	Ilots de Langerhans	40
15	Biosynthèse de l'insuline	42
16	Isoformes des récepteurs à l'insuline	43
17	Voies de signalisation de l'insuline	44
18	Effets physiologiques du glucagon et de ses isoformes	45
19	Schéma des cellules du système nerveux central	54
20	Propagation du message nerveux	56
21	Barrière hémato-encéphalique	57
22	Coupe sagittale de l'encéphale	59
23	Lobe limbique	60
24	Lobe limbique	61
25	Antéhypophyse et hormones	63

26	Axe thyroïdienne	65
27	Axe gonadotrope	66
28	Axe somatotrope	67
29	Axe corticotrope	68
30	Voies noradrénergiques, sérotoninergiques et troubles de l'humeur . . .	73
31	Testicule et spermatogenèse	79
32	Axe gonadotrope masculin	81
33	Ovaire et ovogenèse	82
34	Cycle menstruel	84
35	Axe gonadotrope féminin	86
36	Barrière hémato-placentaire	87
37	Régulation hormonale de la lactation	90
38	Résultats du test d'appétence	107
39	Composition de la nourriture	110
40	Récapitulatif des expérimentations sur le modèle transgénérationnel .	112
41	Photo d'un frottis vaginal d'une femelle fécondée	114
42	Photos du test comportemental de l' <i>open field</i>	117
43	Photos du test comportemental de l' <i>elevated plus maze</i>	118
44	Photos du test comportemental de Porsolt	119
45	Schéma explicatif de l'analyse de la consommation d'O ₂ par les mitochondries	125
46	Schéma explicatif de l'analyse de la fuite d'électrons de la chaîne respiratoire mitochondriale	127
47	Exemple des images obtenues pour l'analyse IRM	140
48	Arbre décisionnel de l'analyse statistique par test ANOVA ou test Kruskal-Wallis	143
49	Rappel des méthodes d'exploration du métabolisme énergétique . . .	147
50	Suivi de la prise de poids et de la prise alimentaire chez les femelles . .	150
51	Suivi de la prise de poids et de la prise alimentaire chez les mâles . . .	151
52	Suivi de la glycémie à 7 et 18 jours de gestation	153

53	Glycémie post-allaitement des femelles âgées de 19 semaines	153
54	Poids post-allaitement des femelles âgées de 19 semaines	154
55	Masse relative du foie post-allaitement des femelles âgées de 19 semaines	155
56	Masse relative du pancréas post-allaitement des femelles âgées de 19 semaines	155
57	Masse relative du tissu adipeux post-allaitement des femelles âgées de 19 semaines	156
58	Masse relative des muscles de la patte droite post-allaitement des femelles âgées de 19 semaines	157
59	Poids des mâles au sevrage à l'âge de 21 jours	158
60	Poids des femelles au sevrage à l'âge de 21 jours	158
61	Poids des mâles sevrés âgés de 3 semaines	159
62	Masse relative du foie des mâles sevrés âgés de 3 semaines	160
63	Masse relative du pancréas des mâles sevrés âgés de 3 semaines	160
64	Masse relative du tissu adipeux des mâles sevrés âgés de 3 semaines	161
65	Masse relative des muscles de la patte droite des mâles sevrés âgés de 3 semaines	162
66	Organisation du tissu hépatique chez les mâles âgés de 3 semaines	165
67	Tests de tolérance au glucose et à l'insuline chez les mâles F1 âgés de 3 semaines	166
68	Tests de tolérance au glucose et à l'insuline chez les mâles F3 âgés de 3 semaines	167
69	Glycémie et insulïnémie à jeun des mâles âgés de 3 semaines	168
70	Sensibilité des récepteurs à l'insuline du foie des mâles âgés de 3 semaines	169
71	Sensibilité des récepteurs à l'insuline du gastrocnémien des mâles âgés de 3 semaines	169
72	Densité mitochondriale hépatique des mâles âgés de 3 semaines	170
73	Respiration et production de ROS par la mitochondrie hépatique des mâles F1 âgés de 3 semaines	171

74	Respiration et production de ROS par la mitochondrie hépatique des mâles F3 âgés de 3 semaines	172
75	Expression des complexes de la chaîne respiratoire mitochondriale hépatique des mâles âgés de 3 semaines	173
76	Dosage des paramètres du stress oxydant hépatique des mâles âgés de 3 semaines	175
77	Poids des mâles âgés de 19 semaines	176
78	Masse relative du foie des mâles âgés de 19 semaines	176
79	Masse relative du pancréas des mâles âgés de 19 semaines	176
80	Masse relative du tissu adipeux des mâles âgés de 19 semaines	177
81	Masse relative des muscles de la patte droite des mâles âgés de 19 semaines	178
82	Organisation du tissu hépatique chez les mâles âgés de 19 semaines	182
83	Tests de tolérance au glucose et à l'insuline chez les mâles F0 âgés de 19 semaines	184
84	Tests de tolérance au glucose et à l'insuline chez les mâles F1 âgés de 19 semaines	185
85	Tests de tolérance au glucose et à l'insuline chez les mâles F3 âgés de 19 semaines	186
86	Glycémie et insulïnémie à jeun des mâles âgés de 19 semaines	187
87	Dosage de l'insuline pancréatique chez les mâles F0 âgés de 19 semaines	188
88	Sensibilité des récepteurs à l'insuline du foie des mâles F1 et F3 âgés de 19 semaines	189
89	Sensibilité des récepteurs à l'insuline du gastrocnémien des mâles F1 et F3 âgés de 19 semaines	189
90	Dosage du glycogène hépatique et musculaire chez les mâles âgés de 19 semaines	190
91	Dosage des triglycérides hépatiques et musculaires chez les mâles âgés de 19 semaines	191
92	Densité mitochondriale hépatique des mâles âgés de 19 semaines	192
93	Respiration et production de ROS par la mitochondrie hépatique des mâles F1 âgés de 19 semaines	194

94	Respiration et production de ROS par la mitochondrie hépatique des mâles F1 âgés de 19 semaines	195
95	Respiration et production de ROS par la mitochondrie hépatique des mâles F3 âgés de 19 semaines	196
96	Expression des complexes de la chaîne respiratoire mitochondriale hépatique des mâles âgés de 19 semaines	197
97	Dosage des paramètres du stress oxydant hépatique des mâles âgés de 19 semaines	198
98	Nombres de gènes hépatiques différentiellement transcrits	200
99	Voies biologiques sur-transcrites pour le groupe "low dose"	201
100	Voies biologiques sous-transcrites pour le groupe "low dose"	202
101	Voies biologiques sur-transcrites pour le groupe "high dose"	204
102	Voies biologiques sous-transcrites pour le groupe "high dose"	205
103	Schéma récapitulatif de la quantité de voies biologiques hépatiques sur ou sous transcrites	206
104	"Heat map" de la modification de la transcription des gènes associés aux diabètes	209
105	"Heat map" de la modification de la transcription des gènes associés aux pathologies hépatiques	212
106	"Heat map" de la modification de la transcription des gènes associés aux pathologies métaboliques	216
107	Rappels des méthodes d'exploration du cerveau, de la neuroendocrinologie et du comportement	235
108	Masse relative de la surrénale droite des mâles sevrés âgés de 3 semaines	238
109	Masse relative de la surrénale droite des mâles âgés de 19 semaines . . .	238
110	Masse relative de la surrénale droite des femelles âgées de 19 semaines	238
111	Mesure de l'impact des PE sur l'activité motrice	242
112	Mesure de l'impact des PE sur l'anxiété	243
113	Mesure de l'impact des PE sur l'apparition de symptôme dépressif . . .	244
114	Masse relative du cerveau des mâles sevrés âgés de 3 semaines	245
115	Masse relative du cerveau des mâles sevrés âgés de 3 semaines	245

116	Masse relative du cerveau des femelles âgées de 19 semaines	246
117	Volume total du cerveau des mâles âgés de 4 semaines	246
118	Volume total du cerveau des mâles âgés de 20 semaines	247
119	Rappels des méthodes d'exploration du système reproducteur	269
120	Masse relative des testicules des mâles âgés de 3 semaines	271
121	Masse relative des testicules des mâles âgés de 19 semaines	272
122	Masse relative des épидидymes des mâles âgés de 3 semaines	272
123	Masse relative des épидидymes des mâles âgés de 19 semaines	272
124	Masse relative des ovaires droits des femelles âgées de 19 semaines . .	273
125	Dosage de la testostérone totale circulante des mâles âgés de 19 semaines	274
126	Coupes histologiques des tubes séminifères des mâles âgés de 19 semaines	275
127	Temps de gestation moyen des femelles F0, F1 et F3	277
128	Nombre total et sexe-ratio des portées des femelles F0, F1, F2 et F3 . .	277

Liste des tableaux

2	Hormones principales et leurs effets	8
3	Propriétés physicochimiques du bisphénol A et S	21
4	Propriétés physicochimiques du triclosan	24
5	Propriétés physicochimiques du méthylparabène	26
6	Pharmacologie du méthylparabène	26
7	Etudes épidémiologiques - Bisphénol A, Bisphénol S	28
8	Etudes épidémiologiques - Triclosan	29
9	Etudes épidémiologiques - Méthylparabène	30
10	Impacts du bisphénol sur le métabolisme du rongeur	49
11	Impacts du triclosan sur le métabolisme du rongeur	50
12	Impacts du méthylparabène sur le métabolisme du rongeur	51
13	Impacts du bisphénol sur le comportement et le cerveau du rongeur	75
14	Impacts du triclosan sur le comportement et le cerveau du rongeur	76
15	Hormones synthétisées par le placenta	88
16	Impacts du triclosan sur le système reproducteur du rongeur	95
17	Impacts du bisphénol sur le système reproducteur du rongeur	96
18	Impacts du méthylparabène sur le système reproducteur du rongeur	98
19	Validation du modèle : contamination par les plastiques	106
20	Validation du modèle : interactions contenant-contenu	107
21	Nombre d'animaux ayant participé au suivi	109
22	Nombre d'animaux ayant participé à la reproduction	114
23	Organes pesés et prélevés selon le type d'euthanasie	120
24	Substrats utilisés pour l'exploration de la respiration mitochondriale hépatique par oxygraphie	124

25	Substrats utilisés pour l'exploration de la production de dérivés réactifs de l'oxygène par les mitochondries hépatiques	126
26	Dosage des différents paramètres sanguins	129
27	Anticorps primaires et secondaires utilisés pour l'exploration de la sensibilité à l'insuline par western-blot	136
28	Dosage des paramètres sanguins relatifs au métabolisme énergétique des mâles F1 à 3 semaines	164
29	Dosage des paramètres sanguins relatifs au métabolisme énergétique des mâles F3 à 3 semaines	164
30	Dosage des paramètres sanguins relatifs au métabolisme énergétique des mâles F0 à 19 semaines	180
31	Dosage des paramètres sanguins relatifs au métabolisme énergétique des mâles F1 à 19 semaines	180
32	Dosage des paramètres sanguins relatifs au métabolisme énergétique des mâles F3 à 19 semaines	181
33	Dosage des hormones thyroïdiennes et de l'ACTH des mâles F0 à 19 semaines	239
34	Dosage des hormones thyroïdiennes et de l'ACTH des mâles F1 à 3 semaines	240
35	Dosage des hormones thyroïdiennes et de l'ACTH des mâles F1 à 19 semaines	240
36	Dosage des hormones thyroïdiennes et de l'ACTH des mâles F3 à 3 semaines	240
37	Dosage des hormones thyroïdiennes et de l'ACTH des mâles F3 à 19 semaines	240
38	Volumes des aires cérébrales modifiées pour les mâles F0 âgés de 20 semaines	248
39	Volumes des aires cérébrales modifiées pour les mâles F1 âgés de 4 semaines	250
40	Volumes des aires cérébrales modifiées pour les mâles F3 âgés de 4 semaines	251

41	Volumes des aires cérébrales modifiées pour les mâles F3 âgés de 20 semaines	253
42	Succès reproducteur des femelles F0	275
43	Succès reproducteur des femelles F1	275
44	Succès reproducteur des femelles F2	276
45	Succès reproducteur des femelles F3	276
46	Tableau récapitulatif des résultats sur le métabolisme des mâles	287
47	Tableau récapitulatif des résultats sur les systèmes neuro-endocrinien et reproducteur des mâles	288
48	Tableau récapitulatif des résultats des femelles	289

Liste des abréviations

aa	Acides aminés
AADAT	<i>Aminoadipate aminotransferase</i>
ABCB1B	<i>ATP-binding cassette subfamily B (MDR/TAP) member 1B</i>
ABP	<i>Androgen binding protein</i>
ACTH	Hormone adrénocorticotrope
ADN	Acide désoxyribonucléique
ADNc	Acide désoxyribonucléique complémentaire
ADH	<i>Antidiuretic hormone</i>
AKT (ou PKB)	Protéine kinase B
ALAT	Alanine aminotransférase
ALDH1B1	<i>Aldehyde dehydrogenase 1 family member B1</i>
AMH	Hormone antimüllérienne
AOC	<i>Area over curve</i>
APOF	<i>Apolipoprotein F</i>
AR	Récepteurs aux androgènes
ARN	Acide ribonucléique
ARNm	Acide ribonucléique messenger
ASAT	Aspartate aminotransférase
ATP	Adénosine triphosphate
AUC	<i>Area under curve</i>
BCA	<i>Bicinchoninic acid assay</i>
BHE	Barrière hémato-encéphalique
BPA	Bisphénol A
BPS	Bisphénol S
BTG2	<i>BTG anti-proliferative factor 2</i>
C/EBP	<i>CCAAT Enhancer binding protein</i>
C7	Complément 7

CCK	Cholécystokinine
CDKN1A	<i>Cyclin dependent kinase inhibitor 1A</i>
CG	<i>Chorionic gonadotropin</i>
CIDEA	<i>Cell death-inducing DFFA-like effector A</i>
CIRC	Centre international de recherche sur le cancer
CLDN1	<i>Claudin 1</i>
CoA	Coenzyme A
CRH (ou CRF)	<i>Corticotropin-releasing hormone</i>
CSMD1	<i>CUB and Sushi multiple domains 1</i>
CYP450	Cytochromes P450
CYP7A1	<i>Cytochrome P450 family 7 subfamily A member 1</i>
DAPI	4',6-diamidino-2-phénylindole
DDE	Dichlorodiphényldichloroéthylène
DDT	Dichlorodiphényltrichloroéthane
DES	Diéthylstilbestrol
DNase	Désoxyribonucléase
DNP	2,4-dinitrophénol
DOHaD	<i>Developmental origin of health and diseases</i>
DTNB	5,5'-dithiobis-(2-nitrobenzoic acid)
DTT	Dithiothréitol
EDEN	Etude de cohorte généraliste menée en France sur les déterminants pré et post-natals précoces du développement psychomoteur et de la santé de l'enfant
EDTA	Ethylènediaminetétraacétique
EGR1	<i>Early growth response 1</i>
EGTA	Acide éthylène glycol-bis(β -aminoéthyl)-N,N,N',N''-tétraacétique
ELISA	<i>Enzyme-linked immunosorbent assay</i>
ENR	<i>Enoyl-acyl carrier protein reductase</i>
EPM	<i>Elevated plus maze</i>
ERE	<i>Estrogen response elements</i>
E _{max}	Effet maximal

ESR1	<i>Estrogen receptor 1</i>
FAD	Flavine adénine dinucléotide
FRAP	<i>Ferric ion reducing antioxydant power</i>
FSH	<i>Follicle stimulating hormone</i>
GH	<i>Growth hormone</i>
GHRH	<i>Growth hormone releasing hormone</i>
GIN	Grenoble institut des neurosciences
GIP	<i>Gastric inhibitory polypeptide</i>
GLP-1	<i>Glucagon-peptide like 1</i>
GLP-2	<i>Glucagon-peptide like 2</i>
GLUT2	Transporteur de glucose 2
GLUT4	Transporteur de glucose 4
GnRH	<i>Gonadotropin releasing hormone</i>
GPx	Glutathion peroxydase
GR	Récepteurs aux glucocorticoïdes
GSTA2	<i>Glutathione S-transferase alpha 2</i>
GSTP3	<i>Gluthathione S-transferase pi 3</i>
HEBP2	<i>Heme binding protein 2</i>
HMGCR	<i>3-hydroxy-3-methylglutaryl-CoA reductase</i>
HSD17B2	<i>Hydroxy(17-beta)dehydrogenase 2</i>
HSP90	<i>Heat shock protein 90</i>
HSP90AA1	<i>Heat shock protein 90 alpha family class A member 1</i>
IAB	Institut pour l'avancée des biosciences
ICAM1	<i>Intercellular adhesion molecule 1</i>
IGF-1	<i>Insulin-like growth factor 1</i>
IGF-2	<i>Insulin-like growth factor 2</i>
IGFBP1	<i>Insulin-like growth factor binding protein 1</i>
IGFBP2	<i>Insulin-like growth factor binding protein 2</i>
IMC	Indice de masse corporelle
IRM	Imagerie par résonance magnétique
LBFA	Laboratoire de bioénergétique fondamentale et appliquée

LECA	Laboratoire d'écologie alpine
LCS	Liquide cérébrospinal
LH	<i>Leitniz hormone</i>
LPL	<i>Lipoprotein lipase</i>
MAPK	<i>Mitogen activated protein kinase</i>
MCM10	<i>Minichromosome maintenance replication 10 replication initiation factor</i>
MDA	Dialdéhyde malonique
MP	Méthylparabène
NAD	Nicotinamide adénine dinucléotide
NADP	Nicotinamide adénine dinucléotide phosphate
NAFLD	<i>Non-alcoholic fatty liver disease</i>
NAMPT	<i>Nicotinamide phosphoribosyltransferase</i>
NASH	<i>Non-alcoholic steato-hepatitis</i>
NP40	Nonidet P40
NPY	Neuropeptide Y
NQO1	<i>NADPH quinone dehydrogenase 1</i>
NR0B2	<i>Nuclear receptor subfamily 0 group B member 2</i>
NR4A1	<i>Nuclear receptor subfamily 4 group A member 1</i>
OMS	Organisation mondiale de la santé
PAQR9	<i>Progesterin and adipoQ receptor family member 9</i>
pb	Paires de bases
PBS	<i>Phosphate-buffered saline</i>
PCB	Polychlorobiphényles
PE	Perturbateurs endocriniens
PI3K	Phosphoinositide 3-kinases
PNA	<i>Peanut agglutinin</i>
POMC	Proopiomélanocortine
POP	Polluants organiques persistants
PPAR	Récepteurs activés par les proliférateurs de peroxysomes
PRLR	<i>Prolactin receptor</i>
QI	Quotient intellectuel

RCPG	Récepteurs membranaires couplés aux protéines G
RNase	Ribonucléase
ROS	<i>Reactive oxygen species</i>
RT1-BB	<i>RT1 class II locus Bb</i>
SDS	<i>Serine dehydratase</i>
SDS-PAGE	<i>Sodium dodecyl sulfate-polyacrylamide gel electrophoresis</i>
SEPAGES	Suivi de l'exposition à la pollution atmosphérique durant la grossesse et effet sur la santé
SERPINH1	<i>Serpin family H member 1</i>
SLYM	<i>Subarachnoid lymphatic-like membrane</i>
SOCS2	<i>Suppressor of cytokine signaling 2</i>
SREBF1	<i>Sterol regulatory element binding transcription factor 1</i>
SRIH	<i>Somatotropin release inhibiting hormones</i>
T ₃	Triiodothyronine
T ₄	Thyroxine
TAG	Triacylglycérols
TBA	Acide thiobarbiturique
TBARS	<i>Thiobarbituric acid reactive substances</i>
TBG	<i>Thyroid binding globulin</i>
TBS	<i>Tris-buffer saline</i>
TCS	Triclosan
TMB	3,3',5,5'-tétraméthylbenzidine
TMPD	N,N,N',N'-tétraméthyl-1,4-phénylènediamine
TPTZ	Tripyridyltriazine
TR	Récepteurs aux hormones thyroïdiennes
TRH	<i>Thyrotropin-realising hormone</i>
TSH	<i>Thyroid stimulating hormone</i>
TTR	Transthyrétine
UE	Union Européenne
UBD	<i>Ubiquitin D</i>
UGA	Université Grenoble Alpes

USP18 *Ubiquitin specific peptidase 18*

VO Voie orale

Première partie

Introduction

Chapitre 1

Polluants et santé

1.1 Prise en compte de l'impact des polluants sur la santé

1.1.1 Une problématique nouvelle

Aquatique, terrestre ou bien aérienne, la pollution existe sous toutes les formes possibles. Elle peut être occasionnelle ou persistante dans le temps, à faible ou forte dose, volontaire ou involontaire, d'origine synthétique ou naturelle, ... En bref, il est difficile de caractériser exactement ce qu'est un polluant concernant sa provenance, sa durée, son caractère et sa dose (*World Health Organization, 2016; European Environment Agency, 2019*). Malgré tout, il existe un point commun : l'impact sur la santé. En 2019, 9 millions de personnes seraient décédées des suites de la pollution, soit environ 16 % des décès dans le monde (*Fuller et al., 2022; Institute for Health Metrics and Evaluation*). Pourtant, ce n'est que depuis la fin du XIX^e siècle que le terme de "pollution" est lié aux questions de santé dû à l'essor de l'industrialisation (*Jarrige, 2011*). Ces questions de pollution et santé ne sont cependant pas nouvelles : la préoccupation de l'impact de l'environnement sur la santé date de la médecine hippocratique, où l'importance de la qualité de l'eau et de l'air était prépondérante.

Cette prise de conscience tardive a commencé notamment par la "découverte" de l'impact du plomb sur la santé. La toxicité de ce métal lourd est connue depuis l'antiquité, puisque le plomb a été longtemps utilisé comme poison. Cela n'a pas empêché son utilisation en grande quantité depuis -4000 av. JC et jusqu'au XX^e siècle dans la création de vernis, de tuyaux, d'ustensiles de cuisine, *etc ...* (*Waldron, 1973; Gidlow, 2015*) Pourtant les anémies, les douleurs musculaires et articulaires, les atteintes rénales et les effets reprotoxiques sont observés par les médecins tout au long des

âges (Orfila, 1818; Cantarow & Trumper, 1944; Lane, 1949; Waldron, 1973). Il faudra attendre le XX^e siècle pour comprendre que, même à de petites doses (Ettinger *et al.*, 2019), le plomb entraîne de graves troubles neurologiques avec la découverte du saturnisme infantile (Mitchell, 1932; Findlay, 1935; Cantarow & Trumper, 1944). L'utilisation du plomb en France est aujourd'hui réglementée : en 2015, le seuil d'intervention est passé de 100 µg/L à 50 µg/L (Haut Conseil de la Santé Publique, 2014) même si des concentrations bien plus faibles en plomb sont répandues et sont tout aussi délétères, notamment chez les enfants (Gidlow, 2015). Entre 2015 et 2018, 2511 cas de saturnisme ont été notifiés en France selon Santé Publique France, soit 500 à 722 cas par an (Santé Publique France - Saturnisme infantile).

Autre exemple bien connu, l'amiante, fibre naturelle cristalline douée d'une grande résistance à la chaleur mais dont l'impact sur la santé respiratoire n'est plus à prouver : l'amiante est responsable de 80 % des mésothéliomes (cancers touchant la plèvre, le péritoine et le péricarde) et de lésions pulmonaires et pleurales (pneumoconioses) (Lin *et al.*, 2007; Reid *et al.*, 2021). Il faudra attendre 90 ans entre l'évidence de sa toxicité (1906) et son interdiction en France (1997) (Greenberg, 1994; INSERM, 1997). En 2008, l'amiante échoue à être interdite au niveau mondial lors de la Réunion de Rome (*United Nations*, 2008) malgré une classification en tant que produit cancérigène depuis 1977 par le Centre International de Recherche sur le Cancer (CIRC) (*International Agency for Research on Cancer*, 1977).

Dernier exemple, les polychlorobiphényles (PCB) sont des composés utilisés au début du XX^e siècle en tant qu'isolants électriques ininflammables et comme caloporteurs (Faroon & Ruiz, 2016). Ils sont interdits en France depuis 1987 et ont été classés cancérigènes probables par le CIRC. L'exposition à ces composés entraînent des effets neurotoxiques (Pessah *et al.*, 2019), notamment sur le développement neurologique de l'enfant. Malgré leur interdiction, et du fait de leur caractère persistant, les PCBs sont retrouvés dans l'alimentation provenant de sources polluées, notamment le poisson (Stahl *et al.*, 2009; Faroon & Ruiz, 2016). En effet, ils font partie de la classe des polluants organiques persistants (POP), famille de polluants résistants à la dégradation physique et biologique (ultra-violets, bactérienne, ...) et qui se bioaccumulent dans les organismes (*Stockholm Convention*, 2019). De manière générale, les POPs sont des cancérigènes probables et entraînent des effets neurotoxiques et de

perturbation endocrinienne (Faroon & Ruiz, 2016; Wahlang, 2018; Guo *et al.*, 2019), c'est à dire qu'ils peuvent altérer les mécanismes hormonaux physiologiques. La question de l'impact des polluants sur la santé de l'Homme et plus précisément sur le système hormonal commence de ce fait à prendre de l'ampleur.

1.1.2 Polluants et système hormonal

Plusieurs scandales politiques ont poussé les scientifiques à se poser la question de l'impact des polluants sur le système endocrinien. Un des premiers scandales est celui du diéthylstilbestrol (DES), aussi appelé "scandale du Distilbène" en France. En 1947, l'œstrogène de synthèse DES est un médicament commercialisé dans le but d'éviter les fausses couches chez les femmes enceintes (Levadou & De Champris, 2010). Cet effet n'est basé sur aucune preuves d'efficacité dû aux législations en vigueur de l'époque. Aux Etats-Unis la prescription de DES chute en 1953 à la suite de la parution d'une étude clinique prouvant que le DES ne diminue pas le nombre de fausses couches mais semble au contraire augmenter le nombre d'accouchements prématurés (Dieckmann *et al.*, 1953). Le DES sera interdit en 1971 aux Etats-Unis et en 1977 en France (Levadou & De Champris, 2010) à la suite de signalements de cancers du vagin et du col utérin de jeunes femmes dont les mères ont été exposées au DES durant leur grossesse (Herbst *et al.*, 1971; Newman *et al.*, 1971). Jusqu'en 1993, il sera rapporté un risque accru du cancer de sein chez les "mères DES" (Colton *et al.*, 1993), des risques de cancers, de stérilité, de malformations de l'appareil génital, ... chez les "filles DES" (Kaufman *et al.*, 1980; Herbst *et al.*, 1981; Goldberg & Falcone, 1999; Swann, 2000) et des malformations de l'appareil génital ainsi que des problèmes de fertilité chez les "fils DES" (Perez *et al.*, 2005). De plus, l'impact du DES a également touché la 2^e génération avec la mise en évidence de malformations de l'orifice urinaire chez les "petits-fils DES" (Klip *et al.*, 2002).

La question de la perturbation du système hormonal chez les animaux est particulièrement importante dans les années 1940 à 1980 à la suite de déversement volontaire ou involontaire de produits chimiques dans l'environnement (Markey *et al.*, 2002). En 1962, Rachel Carson dénonce entre-autre l'impact du dichlorodiphényltrichloroéthane (DDT) sur la santé humaine et environnementale (Carson, 1962). Ce

pesticide organochloré est utilisé en grande quantité dans les années 1950 afin d'éradiquer le paludisme. Elle rapporte dans son livre "*Silent spring*" l'impact de ce POP sur la reproduction du pygargue à tête blanche (*Haliaeetus leucocephalus*) et du faucon pèlerin (*Falco peregrinus*) classés comme espèces en voie d'extinction. A forte dose, le DDT, et plus particulièrement son métabolite le dichlorodiphényldichloroéthylène (DDE), agirait sur le système endocrinien régulant la calcification des œufs par la glande de Mehlis (Lundholm, 1997). L'altération de ce processus physiologique entraînerait une trop grande fragilité de la coquille et impacterait donc la couvaison et le bon processus de reproduction de ces oiseaux. Autre exemple, dans les années 1970 la population de goélands du lac Ontario au Canada souffre de malformation (yeux manquants, mauvais développement des pattes, becs déformés, ...) à la suite d'une exposition aux dioxines, POPs issus de la combustion de composés chlorés (Peakall & Fox, 1987). Dix ans plus tard, dans les années 1980, un mauvais développement des organes génitaux mâles chez les alligators du lac Apopka en Floride a été observé à la suite de relargage de dicofol, acaricide possédant une structure proche du DDT (Guillette *et al.*, 1994; Guillette *et al.*, 1996).

Lors de la conférence de Wingspread en 1991, la question de l'impact des produits chimiques sur la reproduction et la santé des espèces résonne avec le scandale du DES. La question de xénobiotiques (substances étrangères introduites dans l'organisme) impactant la régulation hormonale chez les animaux et l'Homme est alors posée (Markey *et al.*, 2002). Une nouvelle classe de xénobiotique est alors formée regroupant les polluants pouvant perturber le système hormonal physiologique : les perturbateurs endocriniens (PE).

1.2 Avant propos sur les hormones

1.2.1 Généralités

Une hormone (Figure 1, Tableau 2) est définie comme étant une "*molécule sécrétée par une structure bien différenciée (cellule ou glande endocrine), en réponse à une stimulation, [...] et capable à très faible dose d'intervenir sur un organe ou un tissu cible portant un récepteur spécifique*" (Dictionnaire Académie Nationale de Médecine). Il existe 3 grands types structurels d'hormones (Norman & Henry, 2015) :

- Les hormones peptidiques, synthétisées à partir de gènes. C'est le cas des hormones hypophysaires, pancréatiques et parathyroïdiennes.
- Les hormones stéroïdes (ou stéroïdiennes) qui sont synthétisées à partir du cholestérol via la stéroïdogénèse. C'est le cas des hormones corticosurrénales (minéralocorticoïdes et glucocorticoïdes) et sexuelles (androgènes, œstrogènes et progestatifs).
- Les hormones dérivées d'acides aminés et de phénols regroupant les hormones thyroïdiennes et les catécholamines. Une fois synthétisées, les hormones vont pouvoir délivrer un message précis via leurs récepteurs. Ce message peut être une inhibition, une stimulation ou une sécrétion et est propre à chaque couple hormone-récepteur.

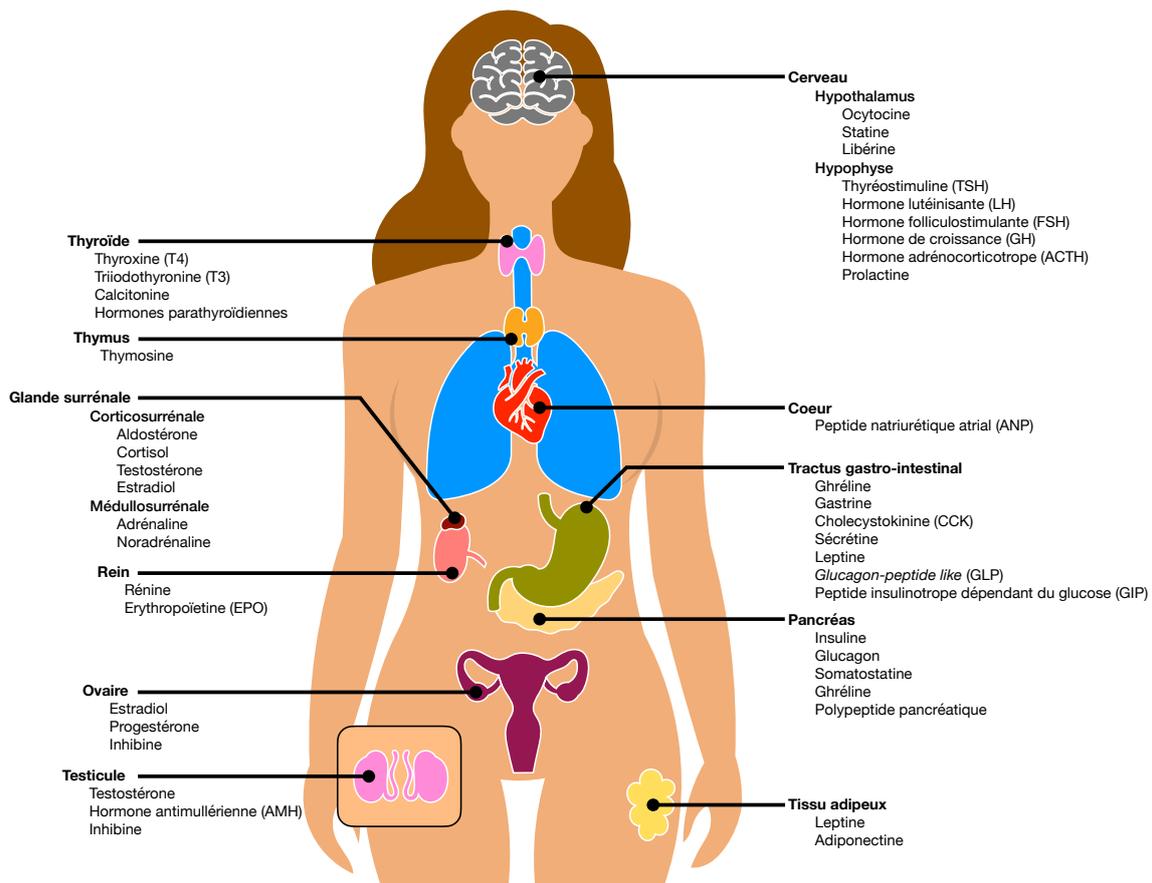


FIGURE 1 – Schéma non exhaustif des différents organes sécréteurs d'hormones. La sécrétion d'hormone permet aux organes de communiquer entre eux (adapté de *World Health Organisation*, 2012).

Organes	Hormones	Actions	
Cerveau	Hypothalamus	Contraction des muscles lisses (utérus et glandes mammaires) Inhibe la sécrétion d'hormone anté-hypophysaire Stimule la sécrétion d'hormone anté-hypophysaire	
	TSH	Stimule production T ₄	
	LH FSH GH ACTH Prolactine	Stimule la production d'estradiol et de testostérone Stimule la production d'estradiol et des transporteurs de la testostérone Stimule la production d'IGF Stimule la production de cortisol Stimule la production de lait par la glande mammaire	
Thyroïde	T ₃ T ₄	Stimule le neurodéveloppement, la croissance osseuse, ... Pro-hormone thyroïdienne	
	Calcitonine	Diminue la calcémie	
	Hormones parathyroïdiennes	Augmente la calcémie	
	Aldostérone Cortisol	Module la pression artérielle Inhibe l'activation du système immunitaire, stimule la glycolyse, ...	
Glande surrénale	Corticosurrénale		
	Médulesurrénale	Adrénaline Noradrénaline	Stimule la glycolyse, la tachycardie, l'éveil, ... Stimule la glycolyse, la tachycardie, l'éveil, ...
	Ghréline	Stimule la sensation de faim	
	Gastrine Cholécystokinine Leptine GLP GIP	Stimule la sécrétion d'acide gastrique Stimule la sécrétion de bile et inhibe la sensation de faim Inhibe la sensation de faim et stimule la dégradation des acides gras Inhibe la sensation de faim et stimule la sécrétion d'insuline Stimule la sécrétion d'insuline	
Pancréas	Insuline	Stimule la glyco-génogenèse et la néolipogenèse	
	Glucagon	Stimule la néoglucogenèse et la lipolyse	
	Somatostatine	Régule la sécrétion d'insuline et de glucagon	
	Estradiol Progesterone Inhibine	Stimule la prolifération de l'endomètre, la croissance folliculaire, permet l'ovulation (pic) Permet le maintien de la grossesse Inhibe la sécrétion de FSH	
Ovaire	Testostérone AMH Inhibine	Stimule la spermatogénèse et la maturation des spermatozoïdes Permet la différenciation sexuelle chez le fœtus Inhibe la sécrétion de FSH	
	Testicule		

TABLEAU 2 – Hormones principales et leurs effets (non exhaustif). Les hormones ont toutes des fonctions propres dépendantes de l'emplacement du récepteur auquel elles se fixent. Certaines hormones vont également entraîner ou freiner la libération de d'autres hormones (adapté de *World Health Organization, 2012*). ACTH, hormone adréno-corticotrope; AMH, hormone antimüllérienne; FSH, hormone folliculo-stimulante; GH, hormone de croissance; GIP, peptide insulino-trope dépendant du glucose; GLP, "glucagon-peptide like"; LH, hormone lutéinisante; T₃, triiodothyronine; T₄, thyroxine; TSH, thyro-stimuline.

1.2.1.1 Mécanismes d'action

Il est important de comprendre que le mécanisme d'action des hormones n'est pas uniquement dépendant de l'hormone en tant que telle mais plutôt de sa liaison à un récepteur (Zoeller *et al.*, 2012; Norman & Henry, 2015). Le récepteur joue un rôle très particulier car sa présence peut dépendre du tissu. L'action de l'hormone sera donc différente selon l'organe exprimant le récepteur. C'est le cas, par exemple, du cortisol synthétisé par la zone fasciculée de la corticosurrénale. Cette hormone se fixe sur les récepteurs aux glucocorticoïdes (GR) qui peuvent être retrouvés au niveau du foie afin de stimuler la libération de glucose, mais aussi au niveau du rein entraînant alors une augmentation de la vitesse de filtration par le glomérule (Adcock, 2003).

Les récepteurs sont aussi différemment exprimés au cours du temps (selon l'âge, le moment de la journée, au cours du mois, ...). C'est le cas, par exemple, de la mélatonine qui est une hormone synthétisée par la glande pinéale en réponse à l'absence de lumière et qui joue donc un rôle dans le rythme circadien (Karsch & Moenter, 2003).

Enfin, une hormone peut également se fixer à différents récepteurs. C'est le cas, par exemple, de l'hormone thyroïdienne triiodothyronine (T_3) qui peut se fixer à plusieurs récepteurs aux hormones thyroïdiennes (TR), que sont $TR\alpha$, $TR\beta_1$ et $TR\beta_2$, et qui sont exprimés dans différents organes et à différents moments selon les récepteurs (Ortiga-Carvalho *et al.*, 2014). Au contraire, la testostérone ne se fixe qu'à un seul type de récepteur, les récepteurs aux androgènes (AR) (Li *et al.*, 2019).

Ces récepteurs sont également retrouvés à différents endroits de la cellule (Norman & Henry, 2015). Il existe des récepteurs nucléaires (Figure 2.A), notamment pour les hormones thyroïdiennes et stéroïdiennes, qui, une fois activés, vont permettre la modulation de la transcription des acides ribonucléiques messagers (ARNm). Les récepteurs nucléaires sont retrouvés initialement sous formes de monomères inactivés liés à la protéine chaperonne HSP90 (pour "*heat shock protein 90*") dans le cytosol (exemple des hormones stéroïdiennes non sexuelles) ou dans le noyau (exemple des hormones stéroïdiennes sexuelles dont les récepteurs peuvent aussi

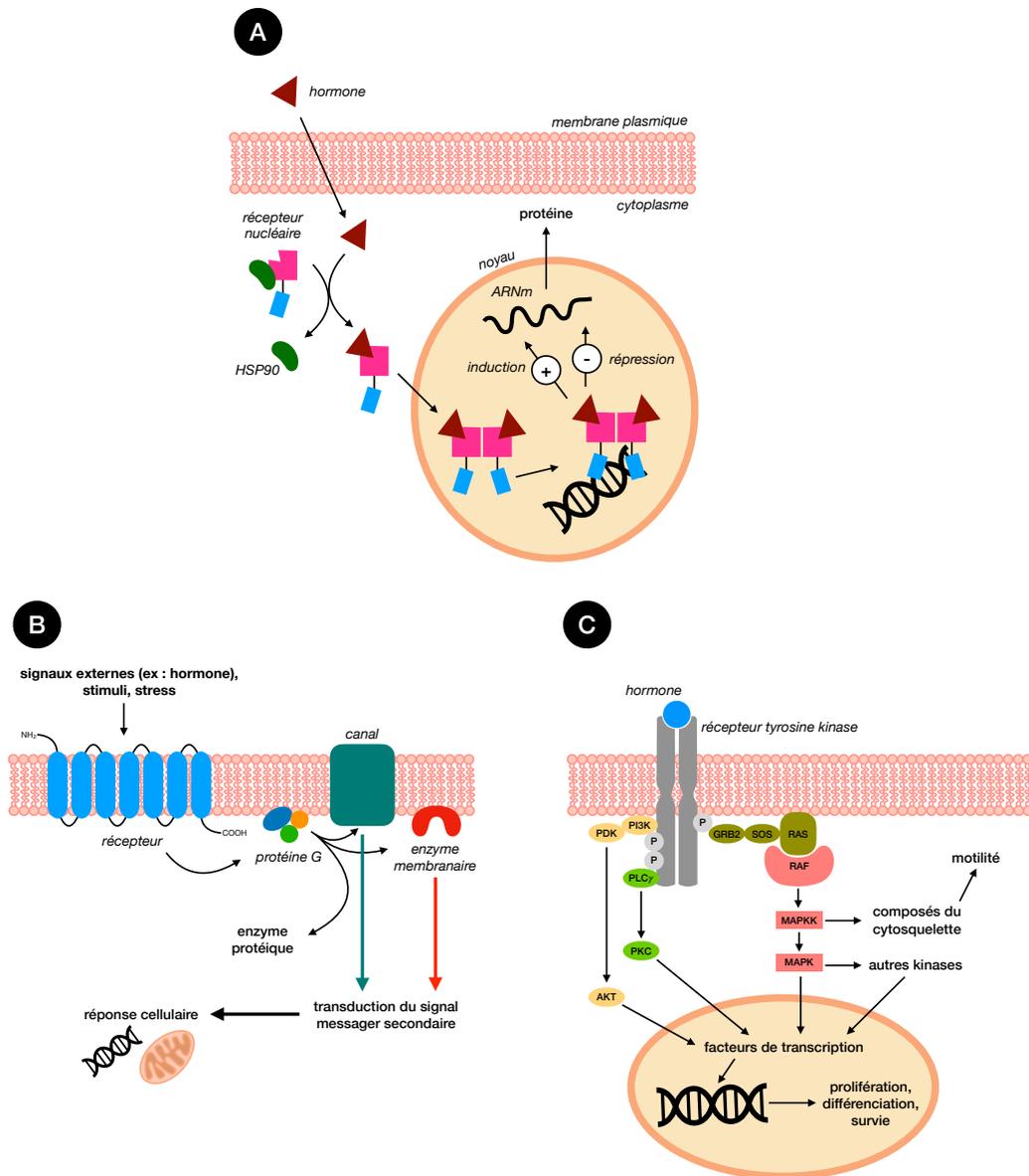


FIGURE 2 – Récepteurs hormonaux; il en existe différents types. Les récepteurs nucléaires (A) sont ciblés par les hormones stéroïdiennes ou thyroïdiennes. Pour les hormones stéroïdiennes sexuelles, ils se trouvent aussi bien dans le cytoplasme que dans le noyau. Les récepteurs membranaires existent sous différentes formes soit sous forme de récepteurs couplés aux protéines G (RCPG) (B) qui sont la cible des hormones peptidiques principalement, mais également les récepteurs tyrosyl-kinases (C). AKT, protéine kinase B; GRB2, "growth factor receptor-bound protein 2"; HSP90, "heat shock protein 90"; MAPK, "mitogen activated protein kinase"; MAPKK, "mitogen activated protein kinase kinase"; P, phosphorylation; PDK, "phosphoinositide-dependent kinase"; PI3K, phosphatidyl inositol-3 kinase; PKC, protéine kinase C; PLC γ , phospho-lipase C γ ; RAF, "rapidly accelerated sarcoma protein"; RAS, "rat sarcoma virus protein"; SOS, "son of sevenless protein".

bien être cytosoliques que nucléaires) (Norman & Henry, 2015; Decourt, 2016). L'hormone va donc traverser la paroi cellulaire, voir nucléaire si son récepteur se trouve dans le noyau, et va se lier à ce monomère provoquant une dissociation d'HSP90 et entraînant une dimérisation du récepteur. Cette dimérisation permet la fixation du récepteur nucléaire à la séquence promotrice du gène entraînant alors une induction ou une répression de la transcription du gène en ARNm. Ce mode d'action est lent, la réponse cellulaire se compte donc en heures voire en jours (Norman & Henry, 2015).

Il existe également des récepteurs membranaires couplés aux protéines G (RCPG), notamment pour les hormones peptidiques (Figure 2.B). L'hormone va se fixer sur la partie extracellulaire du récepteur transmembranaire qui, via la protéine G, va transmettre le message à un effecteur qui peut avoir différentes natures (canal, enzyme, transporteur). Cet effecteur va entraîner la production d'un messager secondaire permettant l'effet biologique escompté.

Un autre récepteur membranaire est le récepteur tyrosyl-kinases (Figure 2.C). Lorsque l'hormone vient se fixer sur la partie extracellulaire de ce récepteur, une augmentation de l'activité tyrosyl-kinase intracellulaire est induite contre le récepteur lui-même mais également contre les protéines cytosoliques que sont la phospholipase C, la phosphoinositide-3-kinase et les protéines impliquées dans la prolifération cellulaire. Le tout entraîne une cascade de réponses induisant la transcription de l'acide désoxyribonucléique (ADN). L'insuline se fixe par exemple à ce type de récepteur. Les récepteurs membranaires ont un mode d'action rapide. La réponse cellulaire se compte en millisecondes, secondes voir minutes.

L'effet des hormones suit, comme tout agoniste, un modèle pharmacodynamique de Clark (Rang, 2006; *World Health Organization*, 2012; Zoeller *et al.*, 2012) qui définit que l'effet maximal (E_{\max}) est retrouvé lorsque tous les récepteurs sont occupés par le ligand (ici l'hormone) (Figure 3). Comme expliqué précédemment, le couple hormone-récepteur joue un rôle important. De plus, les hormones ont une affinité forte avec leur récepteur (Norman & Henry, 2015); l'effet biologique sera donc dépendant de la présence des récepteurs en faible ou grand nombre pour une même quantité d'hormone, mais également de la capacité des cellules ou glandes endocrines à synthétiser l'hormone (*World Health Organization*, 2012). Il est important de

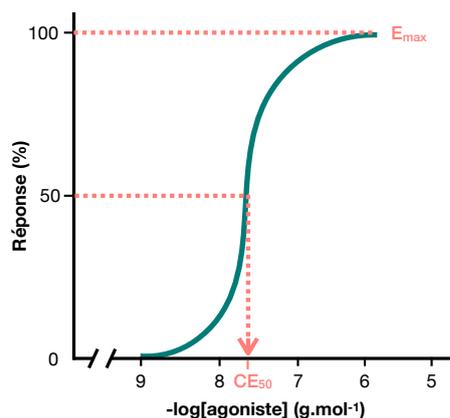


FIGURE 3 – Modèle de Clark. Le pourcentage de réponse cellulaire est dépendant de la concentration d'agoniste présent dans le corps. La concentration effective 50 (CE_{50}) représente la concentration pour laquelle 50 % de l'effet est observé. L'effet maximal (E_{max}) correspond à la concentration pour laquelle l'effet est maximal.

noter que la quantité physiologique d'hormones synthétisées pour avoir un E_{max} est relativement faible et se compte en partie par billion voire partie par trillion. Par exemple, l'hormone thyroïdienne T_3 libre est retrouvée dans le sang à une concentration de 0,29 ng/dL (Norman & Henry, 2015). Cette action à faible dose peut s'expliquer par la forte affinité et spécificité de liaison des hormones à leurs récepteurs. Malgré tout, cet effet biologique pourra être modifié en présence d'agonistes ou antagonistes perturbant le couple hormone-récepteur, tel que les PE.

L'effet physiologique d'une hormone dépend

Du tissu ou de la cellule exprimant le récepteur

Du moment de vie

De l'emplacement du récepteur au niveau de la cellule

De la quantité de récepteur exprimés

De la quantité d'hormones sécrétées

1.3 Les perturbateurs endocriniens

1.3.1 Sources

Les PE sont définis par l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) comme étant une classe de "substances chimiques d'origine naturelle ou synthétique, étrangères à l'organisme et susceptibles d'interférer avec le fonctionnement du système endocrinien" (World

Health Organization, 2012). C'est donc une classe de xénobiotiques vaste comprenant aussi bien des produits chimiques synthétiques à utilité industrielle comme les POPs, vus précédemment, des médicaments agissant sur le système endocrinien tel que l'éthinylestradiol (contraception œstro-progestative), ou bien même des molécules dites "naturelles", comme la génistéine, phytoœstrogène synthétisée par le soja, ou le cadmium, métal présent naturellement dans l'environnement (Darbre, 2015; Guo *et al.*, 2019; Tang *et al.*, 2021; Dixon & Ferreira, 2002; Genchi *et al.*, 2020). Un grand nombre de xénobiotiques peuvent donc rentrer dans cette classe : à titre d'exemple, 58 000 molécules ont été classées PE ou PE susceptibles par l'agence américaine des produits alimentaires et des médicaments (FDA, pour *Food and Drug Agency*) (Ding *et al.*, 2010). Le terme de PE est actuellement critiqué par certains scientifiques car considéré comme trop "vague" notamment pour permettre la mise en place de législations précises (Phillips *et al.*, 2008; Nohynek *et al.*, 2013; Wold, 2016; Autrup *et al.*, 2020).

1.3.2 Mécanismes d'action

Il est difficile de généraliser un mécanisme d'action précis des PE au vu de la grande diversité des xénobiotiques présents dans cette classe. Mais, comme expliqué précédemment, un PE va perturber le couple hormone-récepteur (*World Health Organization*, 2012; Zoeller *et al.*, 2012; Darbre, 2015). Il existe pour cela plusieurs moyens :

- Une modification de l'expression du récepteur hormonal.
- Une modification de la synthèse ou de la dégradation de l'hormone.
- Une modification de la biodisponibilité de l'hormone.
- Une liaison au récepteur hormonal à la place de l'hormone ; dans ce cas différents scénarii existent :
 - Le PE est un agoniste, il va entraîner un effet biologique et peut également gêner la liaison récepteur - hormone.
 - Le PE est un antagoniste, il ne va entraîner aucun effet biologique mais peut gêner la liaison récepteur - hormone.

De plus les xénobiotiques peuvent avoir différents effets intrinsèques propres (Barkhem *et al.*, 1998; Pike *et al.*, 1999). Selon la théorie d'Ariëns, un ligand occupant

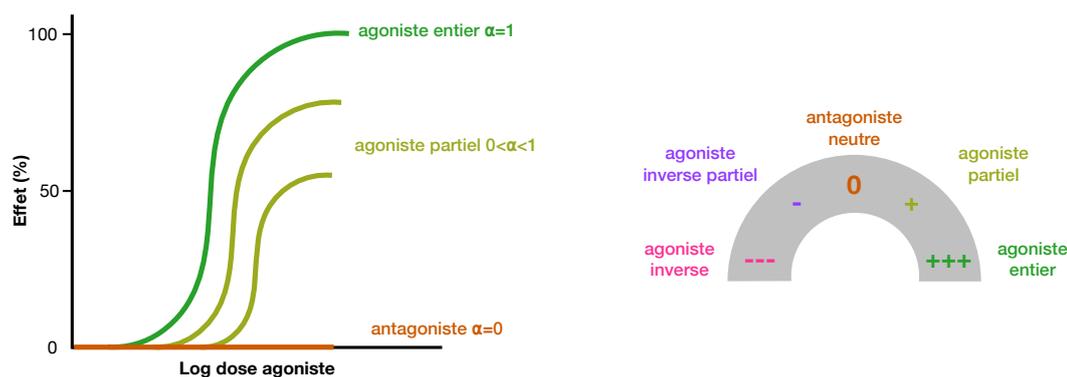


FIGURE 4 – Evolution de la théorie d'occupation ; Ariens fait le postulat que chaque molécule se fixant à un récepteur possède un effet propre allant d'agoniste entier à agoniste inverse.

tous les récepteurs d'un site peut avoir un effet plus ou moins important qu'un autre ligand aux propriétés différentes occupant un même site. C'est à dire que chaque ligand pourra donc être un agoniste total, un agoniste partiel, un antagoniste, un agoniste inverse partiel ou un agoniste inverse total (Figure 4) (Berg & Clarke, 2018). Le mécanisme d'action est donc dépendant du PE étudié.

1.3.2.1 De l'importance de la dose

La question de la faible dose est très présente dans les études sur les PE et ce pour plusieurs raisons. La première est que, selon certaines études, les PE ne suivent pas le paradigme de Paracelse selon laquelle le poison ferait la dose. La question de courbe effet-dose non monotone, sous forme de U ou U inversé, montrerait des effets différents en fonction d'une forte ou faible dose (Figure 5) (Li *et al.*, 2007 ; Vandenberg *et al.*, 2009 ; Vandenberg *et al.*, 2012 ; World Health Organization, 2012 ; Vandenberg, 2014 ; Beronius & Vandenberg, 2015). Pourtant cette remise en cause du principe de Paracelse ne fait pas l'unanimité de la communauté scientifique qui pointe du doigt l'absence de preuve concrète ou la mauvaise interprétation de courbe effet-dose de certaines études (Ashby, 2003 ; Goodman *et al.*, 2009 ; Zoeller *et al.*, 2012 ; Dekant & Colnot, 2013 ; Dietrich *et al.*, 2013 ; Nohynek *et al.*, 2013 ; Solecki *et al.*, 2017 ; Autrup *et al.*, 2020 ; Brescia, 2020).

Une autre raison d'étudier les faibles doses est de se rapprocher des expositions réelles aux PE. Un premier exemple est la différence entre des expositions aiguës à de fortes doses versus des expositions chroniques à faibles doses (Borgert *et al.*,

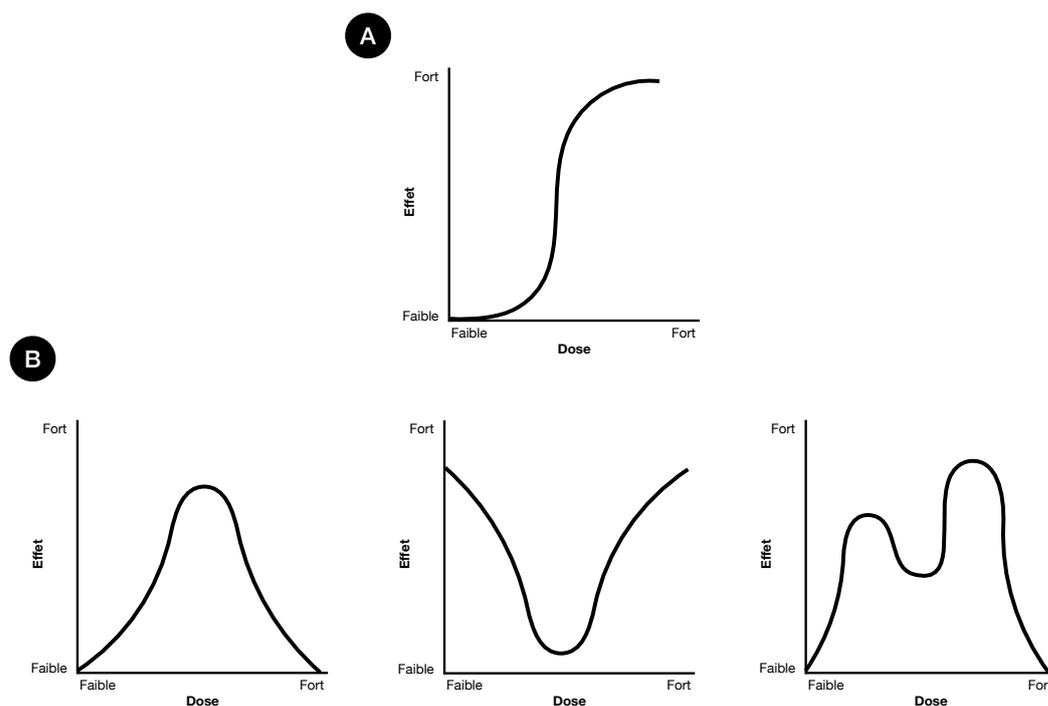


FIGURE 5 – Courbes effet-doses selon différentes théories : (A) représente la courbe effet-dose décrite par Paracelse et utilisée en toxicologie ; (B) représente les courbes non monotones effet-doses pouvant exister pour les perturbateurs endocriniens selon Vanderberg *et al.* (2012).

2021). Les conséquences physiologiques seront différentes et l'importance de se rapprocher de la "réalité" permet de mettre en exergue des risques à faibles doses sur le long terme de certains xénobiotiques. C'est le cas du benzène, hydrocarbure et perturbateur endocrinien potentiel qui, à long terme et à des doses < 1 ppm, entraîne des effets sur les cellules souches hématopoïétiques, des perturbations des enzymes de détoxification et des modifications génétiques augmentant le risque de leucémies (Lan *et al.*, 2004 ; Zhang *et al.*, 2012). De plus, selon le concept "One Health", il semble aujourd'hui important d'étudier l'effet de faibles doses de polluants sur l'environnement (Lerner & Berg, 2015). Si certains PE à doses environnementales ne semblent pas avoir d'effets toxiques sur l'Homme, ils peuvent avoir un effet non négligeable sur les espèces sauvages. La pilule contraceptive éthinylestradiol, par exemple, est retrouvée dans les eaux environnementales à la suite d'une excrétion urinaire des patientes (Pal *et al.*, 2010). Cette dispersion dans l'environnement a notamment entraîné une féminisation de la faune aquatique (Matthiessen *et al.*, 2018).

1.3.2.2 De l'importance du cocktail

La question du cocktail est actuellement très présente en toxicologie (Svingen & Vinggaard, 2016; Kumari & Kumar, 2020; Hamid *et al.*, 2021). En effet, la majorité des études scientifiques se concentrent sur l'étude d'un unique xénobiotique. Pourtant, au vu de la diversité de molécules auxquelles les êtres vivants sont exposés et pouvant avoir un effet PE, il est important de mesurer l'impact de ceux-ci en cocktail (Hamid *et al.*, 2021).

La question du cocktail est délicate car aucun n'entraînera le même effet selon les combinaisons de doses mais aussi les combinaisons de xénobiotiques. En effet, les xénobiotiques peuvent se lier à la même cible ou à des cibles différentes. Il est donc très compliqué de définir à l'avance comment un cocktail va se comporter mais quelques phénomènes ont été étudiés (McCallum *et al.*, 2014; Smith & Mowatt, 2016; Lappas & Lappas, 2022). Par exemple, en considérant 2 xénobiotiques A et B, il existe différents *scenarii* possibles :

- La synergie additive ou sommation; l'effet est la somme des effets de A et B
 - Effet global = effet A + effet B
- La synergie renforçatrice ou potentialisation; l'effet est supérieur à la somme des effets de A et B
 - Effet global > effet A + effet B
- L'antagonisme; l'effet est inférieur à la somme des effets de A et B
 - Effet global < effet A + effet B

Il est possible d'aller encore plus loin selon les connaissances concernant les cibles des xénobiotiques. Par exemple, si les xénobiotiques A et B se fixent sur un même récepteur, il y a compétition entre A et B. Dans ce cas, plusieurs *scenarii* existent :

- La synergie additive; l'effet sera la somme de A et B (Figure 6.A).
- L'antagonisme compétitif; si A est un agoniste et B est un antagoniste alors il faudra ajouter plus de A pour retrouver l'effet initial de A (Figure 6.B).
- Le dualisme compétitif; ici A est un agoniste entier qui a une faible affinité avec le récepteur, et B est un agoniste partiel qui a une forte affinité avec le

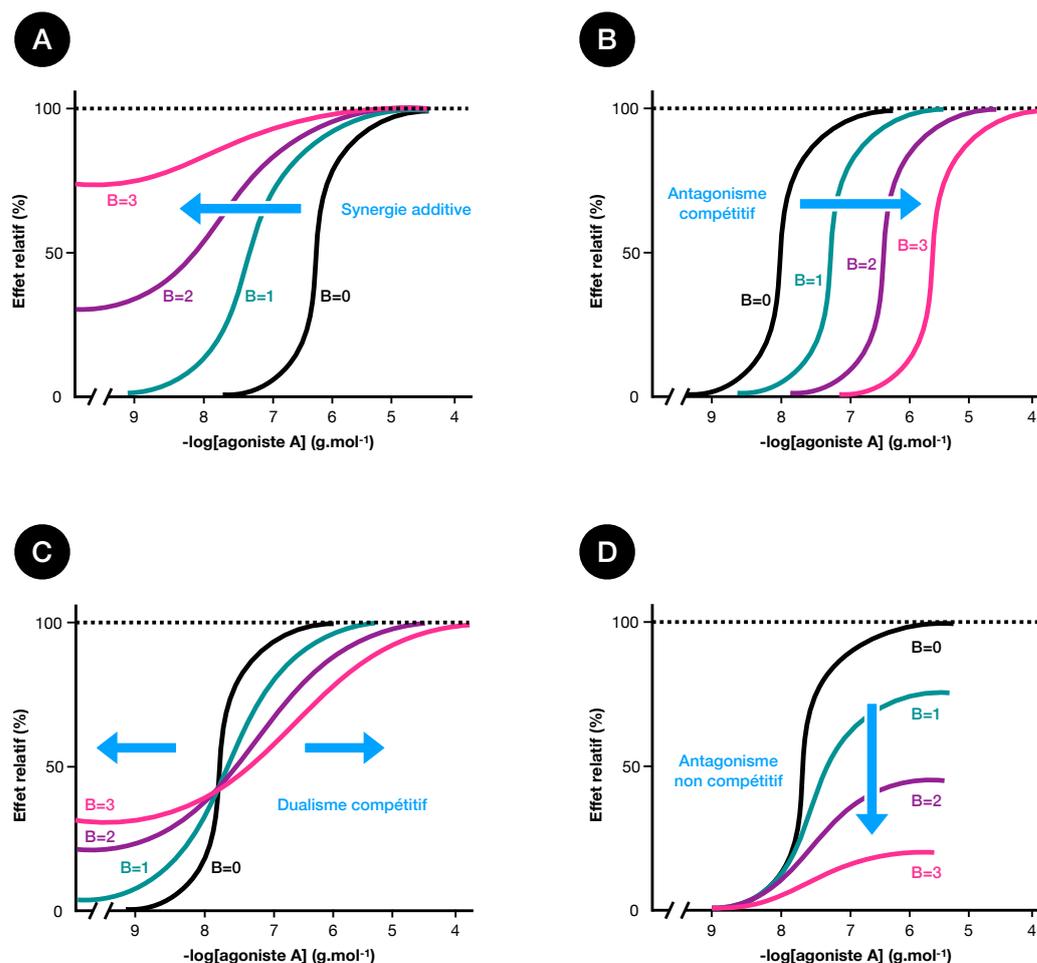


FIGURE 6 – Courbes d’effets d’un agoniste A en présence d’une molécule B se fixant sur le même récepteur et dont la quantité varie (ici de 0 à 3 fois plus que la concentration initiale de A). (A) représente une synergie additive lors de l’ajout de B, c’est à dire que l’effet de A et B est sommé. (B) représente un antagonisme compétitif lors de l’ajout de B, c’est à dire que B, n’induisant pas d’effet, va gêner la fixation de A sur son récepteur. (C) représente un dualisme compétitif entre A et B, avec A représentant un agoniste entier ayant une faible affinité pour le récepteur et B un agoniste partiel ayant une forte affinité pour ce même récepteur. (D) représente un antagonisme non compétitif entre A et B, où B se fixe à un site voisin du site de fixation de A et va donc gêner la fixation de A sur son récepteur.

récepteur. De ce fait, en présence de A, B va se comporter comme un agoniste à faible concentration et comme un antagoniste à forte concentration (Figure 6.C).

Si en revanche A et B ne se fixent pas sur les mêmes récepteurs, il n’y aura pas de compétition. Il existe là encore différents *scenarii* possibles :

- La potentialisation non compétitive (effet global > effet A + effet B) ; l’effet est supérieur à la somme des effets de A et B mais A et B ne se lient pas sur le même récepteur.

- La potentialisation non compétitive par interaction dans la phase toxicocinétique; B va rentrer en compétition dans les phases de stockage, de métabolisme et/ou élimination de A modifiant de ce fait la biodisponibilité de A.
- L'antagonisme non compétitif; B se lie à un site gênant au voisinage du site de liaison de A (Figure 6.D).
- L'antagonisme non compétitif fonctionnel; A et B transmettent des messages biologiques opposés.

Les PE ont montré, comme les autres xénobiotiques, des impacts différents en mélange. C'est le cas par exemple des PE benzo[a]pyrène et triclosan (TCS) qui, en mélange, auront des effets transgénérationnels différents de leurs effets transgénérationnels respectifs sur le système métabolique et reproducteur des xénopes (*Xenopus tropicalis*) (Usal *et al.*, 2021; Usal *et al.*, 2022).

1.3.2.3 De l'importance du moment de vie

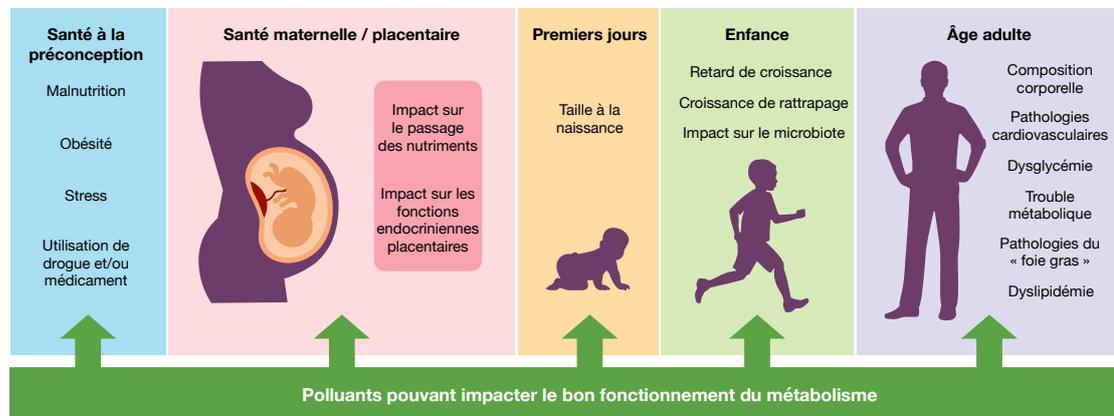


FIGURE 7 – Exemple de l'impact des perturbateurs endocriniens sur le métabolisme selon la théorie des DOHaD ("Developmental Origin of Health and Diseases") (adapté de Hoffman *et al.*, 2021).

Comme vu précédemment, les hormones ne sont pas synthétisées de la même manière en fonction du moment de vie (Norman & Henry, 2015). C'est là le point le plus sensible, un simple dérèglement de ce "moment hormonal" pourrait fortement affecter les organismes vivants. Certaines fenêtres de nos vies sont également plus impactées par les hormones que d'autres (Feld-Rasmussen & Mathiesen, 2011) : c'est le cas de la grossesse, moment de développement de l'être à venir, mais également de l'adolescence où les modifications hormonales sont extrêmement importantes et permettent le développement des caractères sexuels.

La théorie des origines développementales de la santé et des maladies (DOHaD pour "*Developmental Origin of Health and Diseases*"), reprend notamment ce concept de "fenêtre de vie" critique (Hoffman *et al.*, 2021). Cette théorie naît en 1980 après les observations de David Barker sur l'origine des pathologies cardio-vasculaires au Royaume-Uni (Barker & Osmond, 1986). Selon cette théorie, l'environnement parental tel que la nutrition, l'activité physique ou même l'exposition à des polluants pendant la grossesse influenceraient l'expression du code génétique du fœtus (Figure 7) (Berti *et al.*, 2017; Quiclet *et al.*, 2017; Hoffman *et al.*, 2021). De ce fait, la programmation des maladies chroniques à venir se ferait bien avant la naissance de l'enfant (Bianco-Miotto *et al.*, 2017). Ces modifications épigénétiques sont un héritage génétique multigénérationnel influençant l'expression de nos gènes via des processus tels que la méthylation de l'ADN, la modification du marquage des histones et/ou la présence de certains ARN non-codants (Alabert & Groth, 2012; Skinner, 2016). Ces altérations entraînent des modifications des sites de l'ADN accessibles à la transcription et donc des modifications de l'expression des gènes (Figure 8). Tous ces phénomènes sont retrouvés naturellement et dépendent de notre environnement (Radford, 2018).

Un des exemples les plus connus d'impact de PE sur les générations à venir est celui du DES, déjà exposé précédemment (Kaufman *et al.*, 1980; Herbst *et al.*, 1981; Goldberg, 1999; Swann, 2000; Klip *et al.*, 2002). Un autre exemple est celui du vinclozoline, un fongicide utilisé en agriculture et depuis interdit, dont les effets reprotoxiques masculins ont été retrouvés transgénérationnellement chez des souris mâles (Anway *et al.*, 2005).

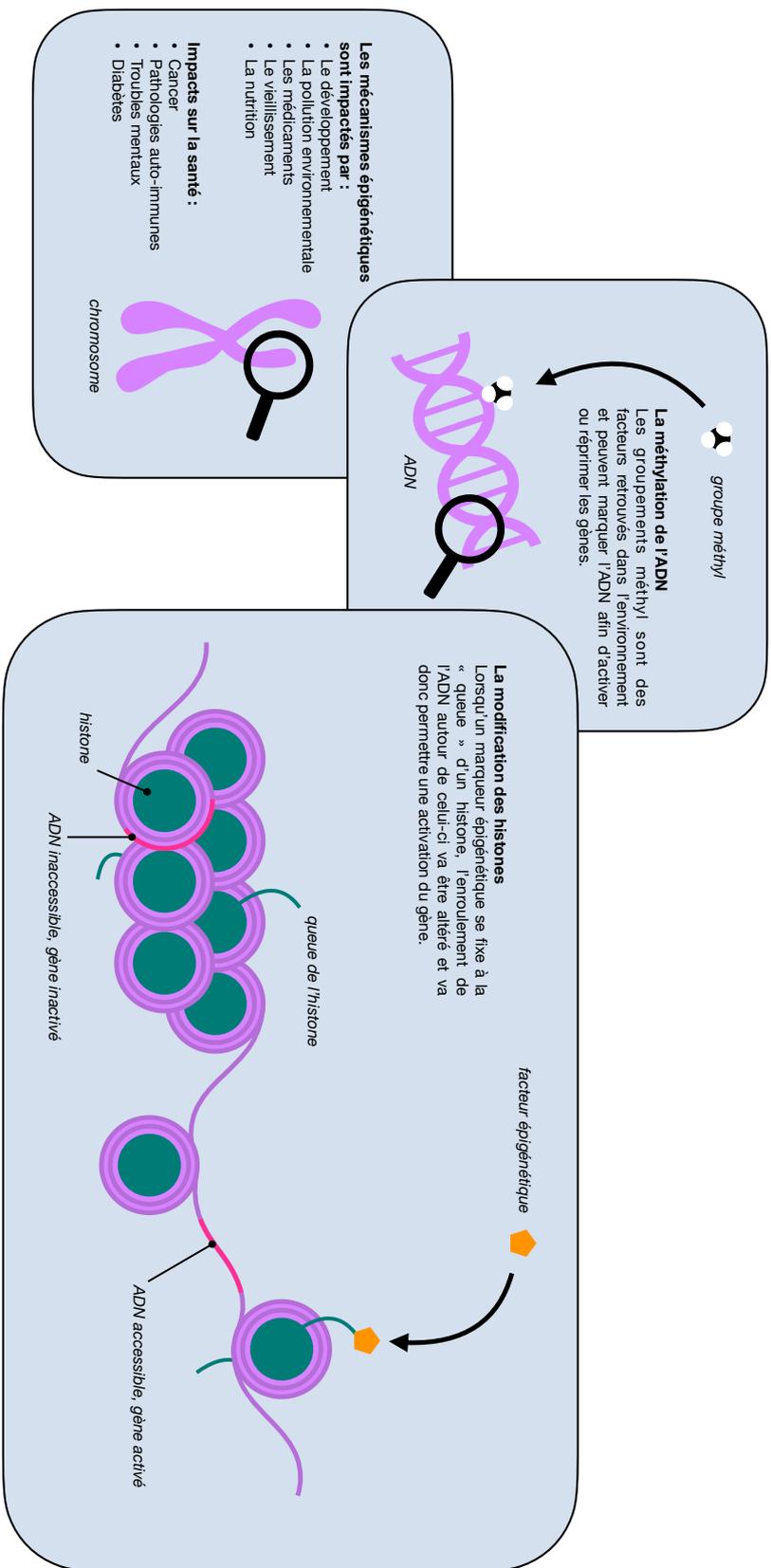


FIGURE 8 – Schéma explicatif des modifications épigénétiques. L'ADN peut subir des méthylation ou des marquages des histones entraînant la répression ou l'activation de différents gènes selon leur localisation. Ces modifications induisent des phénotypes différents mais peuvent également avoir des impacts sur la santé. Les modifications épigénétiques sont fortement dépendantes des impacts sociaux-environnementaux (adapté du *National Institute of Health*).

1.3.3 Modèle d'exposition

Deux études épidémiologiques françaises EDEN (pour "Etude de cohorte généraliste menée en France sur les déterminants pré- et postnatals précoces du développement psychomoteur et de la santé de l'enfant") (Nakiwala *et al.*, 2018) et SEPAGES (pour "Suivi de l'exposition à la pollution atmosphérique durant la grossesse et effet sur la santé") (Guilbert *et al.*, 2021) se sont intéressées à l'impact de l'environnement sur la santé des femmes enceintes au niveau national et au niveau du bassin grenoblois respectivement; et notamment à l'exposition aux PE en France. Selon ces études, 3 PE sont retrouvés en plus grande quantité dans la population française : le bisphénol S (BPS), le TCS et le méthylparabène (MP).

1.3.3.1 Bisphénol S

Le BPS est un produit chimique synthétique et utilisé comme adjuvant pour le développement de papier thermique et de résines phénoliques. Il est retrouvé dans les papiers et plastiques de la vie courante. Son utilisation industrielle a augmenté depuis l'interdiction du bisphénol A (BPA) en France et les limitations d'utilisation en vigueur dans l'Union Européenne (UE) (Rochester & Bolden, 2015; Pelch *et al.*, 2019).

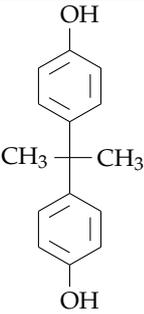
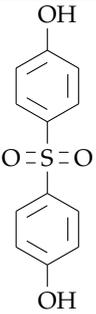
		
Formules		
Noms	Bisphénol A	Bisphénol S
Poids moléculaires (g/mol)	250,27	228,29
pKa (à 25°C)	8,2	9,6
Log Kow	1,65	3,32

TABLEAU 3 – Propriétés physicochimiques du bisphénol A et S

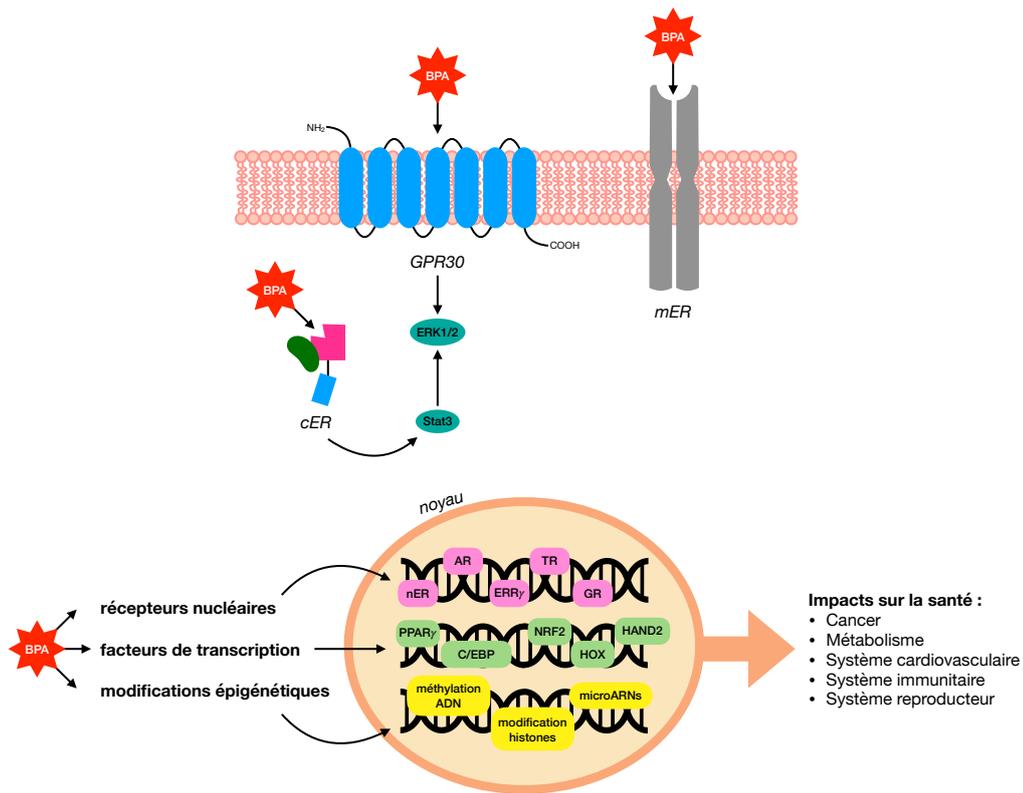


FIGURE 9 – Schéma récapitulatif de certaines cibles du bisphénol A (BPA) (adapté de Cimmino *et al.*, 2020). Le BPA se fixerait de manière plus ou moins spécifique à certains récepteurs membranaires, cytoplasmiques et nucléaires entraînant alors des réponses variées selon le récepteur touché. AR, récepteur aux androgènes; C/EBP, "CCAAT/enhancer-binding proteins"; cER, récepteur cytoplasmique aux œstrogènes; ERK1/2, récepteur extracellulaire kinase 1/2; ERR γ , récepteur relatif aux œstrogènes γ ; GR, récepteurs aux glucocorticoïdes; GRP30, récepteur couplé à la protéine G30; HAND2, "heart and neural crest derivatives-expressed protein 2"; HOX, "homeobox protein"; mER, récepteur membranaire aux œstrogène; nER, récepteur nucléaire aux œstrogènes; NRF2, "nuclear factor erythroid-2-related factor 2"; PPAR γ , "peroxisome proliferator-activated receptor γ ".

Encore peu d'étude ont été faites sur les mécanismes d'action du BPS mais de nombreuses similarités mécanistiques avec le BPA ont été retrouvées. Selon certaines études, le BPA, et son analogue le BPS, se fixeraient sur les récepteurs œstrogéniques (ERE) (Cimmino *et al.*, 2020; Marroqui *et al.*, 2021). Il est cependant important de rappeler que le BPA se lie 1 000 fois moins aux ERE que l'œstradiol. Cependant, il pourrait activer la transcription de ceux-ci (Kuiper *et al.*, 1998). De même, la quantité de BPA nécessaire à une production de prolactine est 10 000 fois supérieure à celle de l'œstradiol, cependant le BPA entraînerait la synthèse des récepteurs à la prolactine (Steinmetz *et al.*, 1997). Le BPA agirait en effet sur des facteurs de transcription (récepteurs activés par les proliférateurs de peroxyssomes (PPAR), C/EBP (pour "CCAAT enhancer binding protein"), gènes HOX, ...) ainsi que sur l'expression de nombreux autres récepteurs nucléaires (AR, TR, GR) (Figure 9). A l'inverse, des études ne

montrent pas d'effets sur les facteurs de transcription ou l'expression des récepteurs nucléaires, mais plutôt sur la stéroïdogénèse (Aghajanova & Giudice, 2011 ; Bloom *et al.*, 2016). Le BPA diminuerait l'expression des enzymes hydroxystéroïdes déshydrogénases mais également de cytochromes P450 (CYP450) permettant la conversion du cholestérol en estradiol, progestérone ou testostérone. Le BPA, et donc le BPS, pourraient perturber le métabolisme des hormones stéroïdiennes et donc le bon déroulement de la reproduction (Figure 10).

Plus particulièrement, il a été montré en cristallographique que le BPS fixe la transthyréine (TTR aussi connu sous le nom de "thyroxin-binding prealbumin" ou TBPA) (Zhang *et al.*, 2016), une protéine plasmatique mais également du liquide cébrospinal (LCS). La TTR est un tétramère synthétisé par le foie. Elle permet le transport de la vitamine A et de 10 à 15 % de l'hormone thyroïdienne thyroxine (T₄) synthétisée par la thyroïde (Norman & Henry, 2015). Ce transporteur est intéressant de par sa capacité à traverser la barrière hémato-encéphalique (BHE), facilitant alors le transport de T₄ dans le cerveau (Fanibunda *et al.*, 2018). La liaison du BPS à ce transporteur pourrait expliquer notamment les perturbations thyroïdiennes dues au BPS (Naderi *et al.*, 2014 ; Zhang *et al.*, 2017).

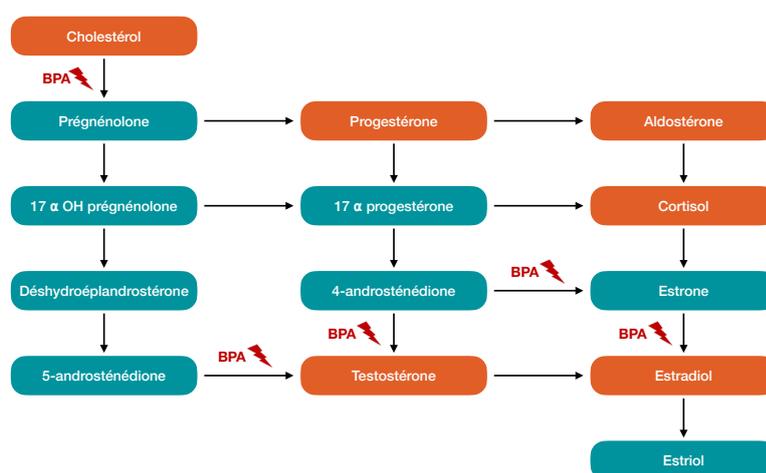


FIGURE 10 – Schéma simplifié de la biosynthèse des hormones stéroïdiennes. Le bisphénol A (BPA) impacterait l'expression des enzymes de type HSD (hydroxy-stéroïdes déshydrogénase) et certains cytochromes nécessaires à la production de la testostérone, de la progestérone et de l'estradiol.

Tout comme son mécanisme d'action, la toxicocinétique du BPS serait très similaire à celle du BPA (Gayrard *et al.*, 2020). Après une administration par voie orale (VO), la biodisponibilité du BPA est croissante en fonction de la dose (35 à 82 % chez le rat après administration VO de 20 à 500 $\mu\text{g}/\text{kg}$ de BPA) (Kurebayashi *et al.*, 2005). La majeure partie du BPA absorbé est métabolisée par effet de premier passage hépatique. Le temps de demi-vie du BPA est d'environ 6h (Upmeier *et al.*, 2000) et il est quasi-entièrement excrété après métabolisation dans le foie par l'UDP-glucuronyl transférase afin de former le BPA-glucuronide (Domoradzki *et al.*, 2004). Celui-ci est excrété majoritairement par voie urinaire, tandis que le BPA non absorbé et non métabolisé est excrété par voie fécale (Snyder *et al.*, 2000). La distribution du BPA chez le raton *in utero* se fait à partir du 16^{ème} jour de gestation par diffusion à travers la barrière foëto-maternelle (Domoradzki *et al.*, 2003). De plus le BPA-glucuronide a été retrouvé dans le lait maternel (Snyder *et al.*, 2000).

1.3.3.2 Triclosan

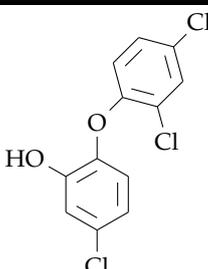
Formule	
Nom	Triclosan
Poids moléculaire (g/mol)	289,5
pKa (à 25°C)	7,9
Log Kow	4,76

TABLEAU 4 – Propriétés physicochimiques du triclosan

Le TCS est un organochloré proche, du fait de sa structure, de la famille des organophénols. Il est utilisé principalement en tant qu'antiseptique bactériostatique. Il est retrouvé dans les produits cosmétiques (savons, dentifrices, crèmes, déodorants, ...) et dans certains produits médicaux (fils chirurgicaux, savons désinfectants). Depuis quelques années, une diminution de l'efficacité antiseptique du triclosan a été

observée dû à l'apparition de mécanismes de résistance bactériens (Société Française d'Hygiène Hospitalière, 2016 ; Weatherly & Gosse, 2017 ; Milanović *et al.*, 2021).

Le TCS permet une inhibition de la croissance bactérienne par inhibition très spécifique de l'enoyl-acyl carrier protein reductase (ENR) des bactéries. Le TCS va donc bloquer la synthèse lipidique nécessaire à la constitution des membranes biologiques bactériennes par création d'un complexe ternaire avec l'ENR et le NAD⁺ (nicotinamide adénine dinucléotide). Il est à noter que l'ENR bactérien possède une séquence et donc une conformation différente de l'ENR des mammifères. De nombreux effets du TCS, décrits dans les chapitres suivants, ont été observés, mais actuellement aucun récepteur ni mécanisme physiologique n'ont été décrits pour expliquer les effets engendrés par le TCS (Weatherly & Gosse, 2017 ; Milanović *et al.*, 2021 ; Sinicropi *et al.*, 2022).

L'absorption du TCS se fait majoritairement par voie dermique au vu de son utilisation dans les cosmétiques. Seul 10% de la dose appliquée est absorbée et retrouvée dans le sang. Une absorption par VO est également possible. Dans ce cas, une concentration maximale systémique est observée 1 à 3h après l'ingestion. Le temps de demi-vie serait différent en fonction de la voie d'absorption : de 10 à 20h après administration par VO et de 1 à 2 jours par voie dermique. Plus de 90 % de la dose absorbée de triclosan est métabolisée, et ce majoritairement par glucuronation et sulfonation. Il serait ensuite éliminé à plus de 87 % par les voies urinaires chez l'Homme. Chez le rat, l'élimination fécale est majoritaire. Le triclosan est également retrouvé dans le lait maternel (Sandborgh-Englund *et al.*, 2006 ; *Scientific Committee on Consumer Products*, 2009 ; *Cosmetic Ingredient Review*, 2010).

1.3.3.3 Méthylparabène

Le MP est un conservateur de la famille des parabènes utilisé dans l'agro-alimentaire, la cosmétique et la santé pour ses propriétés antioxydantes (Soni *et al.* 2002 ; Nowak *et al.*, 2018 ; Wei *et al.*, 2021). C'est également un métabolite naturellement synthétisé par différentes espèces de plantes, d'arthropodes mais également de bactéries (Cetinić *et al.*, 2022).

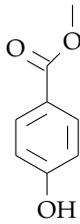
Formule	
Nom	Méthylparabène
Poids moléculaire (g/mol)	152,15
pKa (à 25°C)	8,5
Log Kow	1,96

TABLEAU 5 – Propriétés physicochimiques du méthylparabène

L'impact pharmacologique du MP a été beaucoup étudié dans les années 1960-1970 et comporte de nombreux effets concentrations dépendants et donc de nombreux mécanismes d'action selon le récepteur impacté (Soni *et al.* 2002). L'ensemble de ces effets, les doses ainsi que les modèles utilisés sont regroupés dans le Tableau 6. Un autre effet documenté est celui du MP sur la mitochondrie. En effet, il modifierait la respiration mitochondriale ainsi que la perméabilité de la membrane sur des mitochondries isolées de foie (Nakagawa & Moldéus, 1998; Nakagawa & Moore, 1999).

Modèle	Concentrations	Cibles et effets	Références
-	-	Augmente l'activité de la dihydrofolate réductase (permet la synthèse des purines notamment)	Tzortzatou & Hayhoe, 1974
-	à partir de 200µg/mL	Fixe l'albumine sérique et empêche la liaison de la bilirubine; déplace la bilirubine fixée sur l'albumine sérique	Jun <i>et al.</i> , 1971
<i>in vivo</i>	Effet dose dépendant	Relaxation rapide et réversible des muscles lisses de la trachée par potentialisation des effets de l'isoproterenol et du dibutyryl AMPc	Geddes & Lefcoe, 1973
<i>in vivo</i>	Intraveineuse, 5mM	Blocage de la conduction nerveuse	Kitamura, 1979
<i>in vitro</i>	-	Augmentation de la perméabilité de la plaque motrice des muscles lisses à l'acétylcholine, permet une myorelaxation	Karásek & Slavíček, 1967
<i>in vivo</i>	Voie oral, 0,4%, 3sem	Hydrolyse de l'AMPc par stimulation de la phosphodiesterase IV	Harvey <i>et al.</i> , 1992

TABLEAU 6 – Exemples d'études sur le mécanisme d'action du méthylparabène; un impact sur la relaxation des fibres musculaires lisses par différents mécanismes semble être observé (issu de Soni *et al.*, 2002). AMPc, adénosine monophosphate cyclique.

Le MP, lorsqu'il est administré par VO, est absorbé entièrement et le pic de concentration plasmatique est atteint après 6h. Le MP est totalement métabolisé et éliminé au bout de 48h par voie urinaire sous forme d'acide p-hydroxybenzoïque, de benzoate, d'acide p-hydroxyhippurique, de glucuronide d'ester, de glucuronide d'éther et de sulfate d'éther (Bingham *et al.*, 2001 ; Nowak *et al.*, 2018).

L'exposition quotidienne à ces molécules pose donc question quant à leurs impacts sur la santé notamment sur l'apparition de troubles du comportement, de troubles reproducteurs et de pathologies métaboliques.

Population étudiée	Population (n)	Zone géographique	Matrice de dosage	Concentrations	Effets	Références
Femmes enceintes	480	Etats Unis	Urine	< 0,4 - 2,1 ng/mL (BPS)	Pas d'impact sur la prématurité	Aung et al., 2019
Adultes	251	Chine	Urine	0,53 µg/g de créat (BPA) 0,055 µg/g de créat (BPS)	↑ risque d'apparition du diabète de type 2	Duan et al., 2018
Nouveaux nés	476	Etats Unis	Urine maternelle	< 0,4 - 1,32 µg/L (BPS)	Pas d'impact sur le poids à la naissance	Ferguson et al., 2018
Enfants	41	Etats Unis	Urine	0,23 ng/mL (BPA) 2,06 ng/mL (BPS)	↑ stress oxydant Pas d'impact sur le stress oxydant	Kataria et al., 2017
Femmes	1299	Etats Unis	Urine	< 0,4 - 2,4 µg/L (BPA)	Pas d'impact sur l'apparition du diabète (1 et 2)	Lee et al., 2021
Adultes	1521	Etats Unis	Urine	1,3 ng/mL (BPA) 0,4 ng/mL (BPS)	↑ risque d'obésité Pas d'impact sur l'obésité	Liu et al., 2017
Nouveaux nés	346	Etats Unis	Urine maternelle	1,5 ng/mL (BPA) 0,45 ng/mL (BPS)	↓ poids et circonférence crânienne Pas d'impact sur le poids et la circonférence crânienne	Mustiatis et al., 2018
Enfants	452	France	Urine maternelle	0,9 - 9,3 µg/L (BPA)	Pas de modification du QI à 5 ans	Naktuala et al., 2018
Fœtus à nouveaux-nés	998	France	Urine maternelle	0,8 - 8,8 µg/L (BPA)	Pas d'impact sur le poids et la circonférence crânienne	Philippat et al., 2014
Enfants	545	France	Urine maternelle	0,8 - 8,8 µg/L (BPA)	Internalisation, problème avec les pairs à 3 ans Hyperactivité, externalisation à 5 ans	Philippat et al., 2017
Femmes enceintes	877	Pays Bas	Urine	1,65 ng/mL (BPA) 0,35 ng/mL (BPS)	Pas d'impact sur la fécondité	Philips et al., 2018
Séniors	119	Chine	Sang	3,2 ng/mL (BPA) 0,0061 ng/mL (BPS)	Pas d'impact sur la glycémie à jeun et l'obésité	Song et al., 2019
Enfants	718	Suède	Urine maternelle	0,7 ng/mL (BPS) 1,53 ng/mL (BPA)	Pas d'impact sur le QI jusqu'à 8 ans	Tanner et al., 2020
Femmes enceintes	985	Chine	Urine maternelle	0,16 µg/L (BPS)	↑ temps gest (fille uniquement)	Wan et al., 2018
Adultes	1269	Etats Unis	Urine	0,14 - 8,50 µg/L (BPA) 0,07 - 3,90 µg/L (BPS)	↑ risque d'obésité	Zhang et al., 2019

TABLEAU 7 – Etudes épidémiologiques étudiant l'impact du bisphénol A (BPA) et bisphénol S (BPS) sur la santé. QI, quotient intellectuel ; créat, créatinine.

Population étudiée	Population (n)	Zone géographique	Matrice de dosage	Concentrations	Effets	Références
Femmes enceintes	480	Etats Unis	Urine	3 - 497 ng/mL	↓ risque de naissance prématurée	<i>Aung et al., 2019</i>
Enfants	794	Canada	Urine maternelle	2,5 - 107 ng/mL	Pas d'impact sur le comportement à 3 ans	<i>Eitzel et al., 2018</i>
Nouveaux nés	476	Etats Unis	Urine maternelle	4,35 - 313 µg/L	Pas d'impact sur le poids à la naissance	<i>Ferguson et al., 2018</i>
Enfants	193	Etats Unis	Urine maternelle	< 2,3 - 589 ng/mL	Pas d'impact sur le QI jusqu'à 8 ans	<i>Jackson-Browne et al., 2020</i>
Femmes	511	Pologne	Urine	0,67 - 283,2 µg/L	Pas d'impact sur les réserves ovocytaires	<i>Jurewicz et al., 2019</i>
Enfants	514	Royaume-Uni	Urine maternelle	0,8 ng/mL	↓ circonférence crânienne et abdominale	<i>Lassen et al., 2016</i>
Femmes	1299	Etats Unis	Urine	< 2,0 - 25,99 µg/L	Pas d'impact sur l'apparition du diabète (1 et 2)	<i>Lee et al., 2021</i>
Enfants	452	France	Urine maternelle	< 2,3 - 691 µg/L	Pas de modification du QI à 5 ans	<i>Nakivaala et al., 2018</i>
Femmes enceintes	620	Chine	Urine	< 1,43 - 13,34 ng/mL	↑ risque de diabète gestnel ↑ poids à la naissance (fortes concentrations)	<i>Ouyang et al., 2018</i>
Fœtus à nouveaux-nés	998	France	Urine maternelle	< 2,3 - 732 µg/L	↓ circonférence crânienne	<i>Philippat et al., 2014</i>
Enfants	545	France	Urine maternelle	< 2,3 - 732 µg/L	Troubles de l'humeur et de conduite à 3 ans Pas de trouble du comportement à 5 ans	<i>Philippat et al., 2017</i>
Enfants	718	Suède	Urine maternelle	1,27 ng/mL	Pas d'impact sur le QI jusqu'à 8 ans	<i>Tanner et al., 2020</i>

TABLEAU 8 – Etudes épidémiologiques étudiant l'impact du triclosan sur la santé. QI, quotient intellectuel.

Population étudiée	Population (n)	Zone géographique	Matrice de dosage	Concentrations	Effets	Références
Hommes	215	Espagne	Urine	< 0,1 - 105 ng/mL	Pas d'impact sur la qualité du sperme	<i>Adoannei et al., 2018</i>
Femmes enceintes	480	Etats Unis	Urine	58,6 - 1760 ng/mL	Pas d'impact sur la prématurité	<i>Aung et al., 2019</i>
Femmes enceintes	241	Etats Unis	Urine	5,8 - 1549,8 µg/mL	Pas d'impact sur le diabète gestuel	<i>Bellavia et al., 2019</i>
Nouveaux nés	476	Etats Unis	Urine maternelle	78,1 - 1112 µg/L	Pas d'impact sur le poids à la naissance	<i>Ferguson et al., 2018</i>
Femmes	1299	Etats Unis	Urine	< 1,0 - 269,30 µg/L	↑ risque diabète type 1 et 2	<i>Lee et al., 2021</i>
Enfants	452	France	Urine maternelle	8,0 - 1529 µg/L	Pas de modification du QI à 5 ans	<i>Naktwaia et al., 2018</i>
Fœtus à nouveau-nés	998	France	Urine maternelle	8,3 - 1155 µg/L	↑ poids jusqu'à 36 mois	<i>Philippat et al., 2014</i>
Enfants	545	France	Urine maternelle	8,3 - 1155 µg/L	Pas de trouble du comportement à 3 et 5 ans	<i>Philippat et al., 2017</i>

TABLEAU 9 – Etudes épidémiologiques étudiant l'impact du méthylparabène sur la santé. QI, quotient intellectuel.

Chapitre 2

Métabolisme énergétique

2.1 Fonctionnement général

2.1.1 Généralités

Chez les mammifères, après un repas et donc l'apport de glucose, d'acides aminés (aa) et d'acides gras, le métabolisme est orienté vers la synthèse de constituants de réserves ou anabolisme, tel que le glycogène ou les triacylglycérols (TAG), ou par l'utilisation de ces nutriments à la formation de composés nécessaires aux cellules (protéines, cholestérol, ...). A distance des repas, en période de jeûne, les réserves sont mobilisées et le métabolisme est orienté vers la dégradation, ou catabolisme, de composés oxydables tel que le glucose, les acides gras et les corps cétoniques. Cet équilibre entre apport alimentaire et dépense énergétique est important afin d'éviter le stockage des réserves et donc une prise de poids trop importante (Figure 11) (Lieberman & Sleight, 2001).

Dans cet équilibre, plusieurs organes jouent des rôles prépondérants. Le foie, est une plateforme qui va jouer un rôle régulateur dans le stockage et la distribution de nutriments. Il va pouvoir stocker le glucose sous forme de glycogène; ou bien relarguer du glucose dans le sang pour les organes demandeurs, tels que les muscles. Il va également participer à la formation des TAG qui seront ensuite stockés dans le tissu adipeux. Le pancréas est un organe qui va jouer le rôle d'informateur de l'apport ou du manque de glucose. Il va alors entraîner la synthèse d'hormones telles que l'insuline (hormone hypoglycémiante) ou le glucagon (hormone hyperglycémiante) (Lieberman & Sleight, 2001; Norman & Henry, 2015). Mais un organite cellulaire présent dans toutes les cellules va jouer un rôle majeur dans le métabolisme, il s'agit de la mitochondrie.

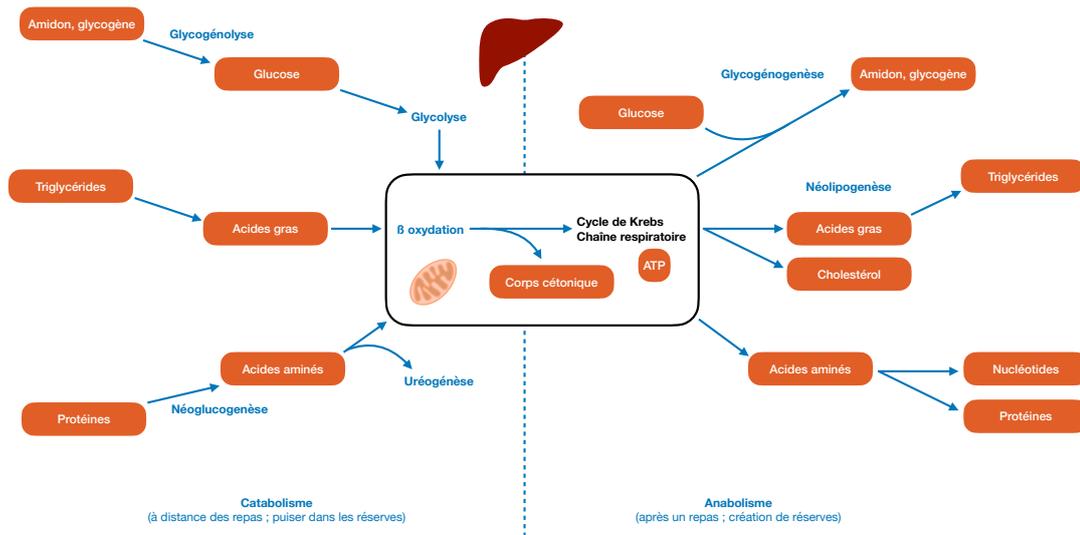


FIGURE 11 – Schéma simplifié de la stratégie énergétique du corps; lors d'apport énergétique, les nutriments sont mis en réserve (anabolisme) tandis qu'à distance des repas, les réserves seront utilisées pour préserver une concentration circulante en nutriments suffisante au fonctionnement des différents organes (catabolisme). ATP, adénosine triphosphate.

2.1.2 La mitochondrie

La respiration cellulaire chez les mammifères est aérobie, c'est à dire que l' O_2 est utilisée afin d'oxyder les substances organiques apportées par l'alimentation permettant de produire de l'adénosine triphosphate (ATP), molécule énergétique nécessaire aux réactions cellulaires. La respiration cellulaire se fait dans la mitochondrie, reste de bactérie rentrée dans les cellules eucaryotes anaérobies. Sur le plan génétique, la mitochondrie possède un ADN circulaire qui est uniquement transmis par la mère. Cet ADN ne code que 13 protéines de la chaîne respiratoire qui la compose. Le reste des protéines sera codé par le génome nucléaire. La chaîne respiratoire possède donc une double origine génétique. Cette chaîne mitochondriale permet à la mitochondrie de protéger la cellule de l' O_2 en transformant celui-ci en CO_2 et H_2O . La respiration cellulaire se fait en 3 étapes (Pollard *et al.*, 2017 ; Devin *et al.*, 2019) :

- Les molécules organiques (glucose, lipide, aa) sont oxydées en molécules dicarbonées afin de former des groupement acétyls permettant alors la synthèse de l'acétyl-CoA (CoA pour coenzyme A).
- Les groupements acétyls sont oxydés par le cycle de Krebs en CO_2 et l'énergie libérée par l'oxydation est conservée par la réduction des cofacteurs NAD et FAD (flavine adénine dinucléotide).

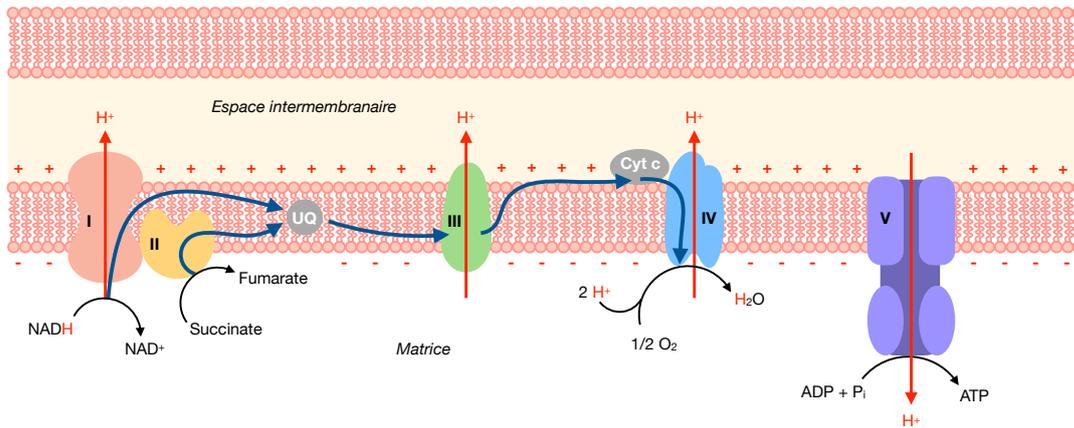


FIGURE 12 – Complexes de la chaîne respiratoire mitochondriale; les flèches bleues indiquent le flux d'électrons. L'ensemble de cette chaîne est connecté à des processus enzymatiques complexes connectés entre eux. ADP, adénosine diphosphate; ATP, adénosine triphosphate; Cyt c, cytochrome c; NAD, nicotinamide adénine dinucléotide; UQ, ubiquinol.

— Les cofacteurs réduits sont ensuite de nouveaux oxydés pour donner des protons et électrons. Les électrons sont transférés le long de la chaîne respiratoire mitochondriale afin de réduire l' O_2 en H_2O . Au cours de ce transfert, une phosphorylation oxydative a lieu permettant la synthèse d'ATP en grande quantité. La chaîne respiratoire mitochondriale est composée de 5 complexes (Figure 12) :

- Le complexe I ou NADH déshydrogénase ; ce complexe récupère les électrons provenant du $NADH_2$ qui transiteront à travers la flavine mononucléotide et les centres fer-soufres pour être cédés à l'ubiquinone oxydée. L'ubiquinone oxydée sera alors réduite en ubiquinol qui transitera dans la membrane interne jusqu'au complexe III où il sera réoxydé. Ce complexe est inhibé spécifiquement par la roténone et est également une pompe à proton, c'est à dire que les H^+ sont expulsés de la matrice mitochondriale vers l'espace intermembranaire par ce complexe.
- Le complexe II ou succinate déshydrogénase ; ce complexe agit de la même manière que le complexe I, à la seule différence que les électrons proviennent du $FADH_2$ provenant du cycle de Krebs ainsi que de la β -oxydation des acides gras. Ce complexe est inhibé spécifiquement par le malonate.
- Le complexe III ou ubiquinol-cytochrome c oxydoréductase ; ce complexe oxyde l'ubiquinol en ubiquinone et les électrons sont alors transférés au cytochrome c qui, une fois réduit, transférera ces électrons au complexe

IV. Ce complexe est inhibé spécifiquement par l'antimycine A et est également une pompe à proton.

- Le complexe IV ou cytochrome oxydase; ce complexe va utiliser les électrons, après oxydation du cytochrome c réduit, afin de réduire l'O₂ en H₂O. Ce complexe sera inhibé spécifiquement par le cyanure et le monoxyde carbone et est également une pompe à proton.
- Le complexe V ou ATP synthase; ce complexe va permettre aux protons expulsés dans l'espace intermembranaire par les complexes I, III et IV de retourner dans la matrice afin de conserver un potentiel membranaire dans la mitochondrie. Le passage des protons par l'ATP synthase entraîne la formation d'ATP. La mitochondrie joue donc un rôle prépondérant dans l'équilibre énergétique permettant d'éviter le stockage des réserves et donc une prise de poids trop importante.

2.1.3 Obésité

2.1.3.1 Physiopathologie

L'obésité (Bhagavan & Ha, 2011) est définie, selon l'OMS, comme une accumulation de gras excessive ou anormale et présentant un risque pour la santé (*World Health Organization - Obesity*). Cependant, l'obésité est le plus souvent estimée à partir de l'Indice de Masse Corporelle (IMC, exprimé en kg/m²) qui correspond au poids d'un individu (en kg) divisé par le carré de sa taille (en m). Lorsque l'IMC est supérieur à 30, l'individu est considéré comme obèse. En 2016, l'obésité touchait 1,9 milliard d'adultes dans le monde (*World Health Organization - Obesity*). L'obésité peut être génétiquement acquise dans de rares cas mais, dans la majorité des cas, elle est due à une modification de l'équilibre énergétique du corps où l'apport énergétique est supérieur à la dépense énergétique entraînant une accumulation des TAG dans les tissus adipeux. Les risques associés à cette accumulation sont des impacts cardiovasculaires avec l'apparition de plaques d'athérosclérose, des risques d'accident cardiovasculaire et d'hypertension; des risques de pathologies métaboliques tel que le diabète de type 2 (Bhagavan & Ha, 2011). L'ensemble de ces pathologies majorent

leurs risques de survenus entre-elles. Il existe également des obésités dues à des modifications génétiques notamment la déficience congénitale en leptine. La leptine est une hormone produite par les adipocytes et interagit avec l'hypothalamus (Norman & Henry, 2015). Elle régule la satiété et donc diminue la sensation de faim lorsqu'elle est produite. Chez les patients obèses ne présentant pas de troubles génétiques, ce taux de leptine est paradoxalement haut, mettant en exergue une diminution de la sensibilité des récepteurs à la leptine.

2.1.3.2 Obésité et PE

Globalement, les études épidémiologiques faites sur le BPA, le BPS, le TCS et le MP retrouvent des doses d'expositions plus ou moins similaires entre les pays (Tableaux 7, 8 et 9). Elles sont principalement faites chez des femmes ou des enfants en relation avec une exposition *in utero*. Ces études ne sont pas unanimes quant aux risques associés à l'exposition aux PE. Liu *et al.* (2017) retrouvent une augmentation du risque d'obésité chez l'adulte exposé au BPA et non au BPS tandis que Zhang *et al.* (2019) retrouvent ce risque associé aussi bien à l'exposition au BPA qu'à son analogue. Aucun lien entre l'exposition au TCS ou au MP et l'apparition d'obésité n'a été rapportée sur l'adulte à notre connaissance. Seule une augmentation du poids de naissance jusqu'à 36 mois lors d'exposition *in utero* au MP a été rapportée (Philippat *et al.*, 2014) ainsi qu'un lien entre l'exposition des mères au TCS et l'augmentation du poids à la naissance (Ouyang *et al.*, 2018).

L'impact des PE sur la prise de poids, et non l'IMC, a été étudié *in vivo* sur les rongeurs (Tableaux 10, 11 et 12). Une augmentation du poids a été retrouvée dans 5 études d'exposition au BPA ou BPS. Pour Akingbemi *et al.* (2004), cette augmentation du poids n'est retrouvée que lors d'une exposition péri-natale de rats au BPA (2,4 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{j}$) chez la descendance et non lors d'une exposition chronique post-natale malgré une prise alimentaire similaire entre le groupe contrôle et le groupe exposé. Il en est de même pour Meng *et al.* (2018, 2019) lors d'expositions péri-natales de souris à des doses de 100 $\text{ng}/\text{kg}/\text{j}$ de BPA ou BPS. Ahsan *et al.* (2018) retrouve une augmentation de la prise de poids des rats après exposition pendant les 10 jours suivant la naissance, mais uniquement pour les plus fortes doses de BPA et BPS (50 $\text{mg}/\text{kg}/\text{j}$). De même pour Ullah *et al.* (2021), pour qui le groupe de rats exposé

chroniquement à la plus forte dose de BPS (50 $\mu\text{g/L}$) voit son poids augmenter à un âge adulte avancé (51 semaines).

De nombreuses autres études n'ont observé aucun impact de l'exposition péri ou post-natale à ces PE sur le poids sur rats ou souris même à forte dose (Chitra *et al.*, 2003; Kabuto *et al.*, 2004; Neigishi *et al.*, 2004; Nikaido *et al.*, 2004; Shi *et al.*, 2017; Shi *et al.*, 2018; Tucker *et al.*, 2018; Zhang *et al.*, 2018a; Dai *et al.*, 2021; Jeminiwana *et al.*, 2021; Kaimal *et al.*, 2021; Darghouti *et al.*, 2022). Trois autres travaux ont retrouvé une diminution du poids général après exposition au BPA (Al-Hiyasat *et al.*, 2002; Honma *et al.*, 2002; Morimoto *et al.*, 2022). Pour ces derniers auteurs, la différence de méthodes et de conditions d'exposition par le lait maternel (allaitement par des mères non exposées *versus* allaitement par les mères précédemment exposées) entraînerait des résultats différents entre les publications.

Après une exposition au TCS, de nombreuses études rapportent une diminution significative et concentration dépendante du poids des rongeurs exposés chroniquement ou *in utero* (Feng *et al.*, 2016; Mandal *et al.*, 2020; Hao *et al.*, 2022a). Pour Hao *et al.*, (2022b), cette diminution du poids serait dû à une modification de la qualité du lait. Au contraire, Hua *et al.* (2019) observent une augmentation du poids accompagnée d'une augmentation de la quantité de tissu adipeux et une augmentation de la prise alimentaire chez les mâles et femelles exposés *in utero* à 10 mg/kg de TCS, et ce, malgré une diminution significative du poids à la naissance. Quelques études ne montrent aucune modification du poids pour le modèle rongeur lors d'exposition chronique ou péri-natale (Kumar *et al.*, 2009; Zorrilla *et al.*, 2009; Cao *et al.*, 2018; Huang *et al.*, 2020; Ma *et al.*, 2020; Hao *et al.*, 2022a; Weber *et al.*, 2022).

Peu d'études de l'impact du MP sur le métabolisme ont été faites et aucune modification du poids n'a été retrouvée lors d'expositions chroniques à de très fortes doses de MP (Oishi, 2004; Vo *et al.*, 2010; Hu *et al.*, 2016a) malgré une augmentation de la quantité de tissu adipeux (Hu *et al.*, 2016a).

2.2 Le foie

Le foie (Hollander *et al.*, 1985; Muriel, 2017) est un organe aux multiples fonctions composé de plusieurs lobes, allant de 2 à 6 selon les individus. C'est un des

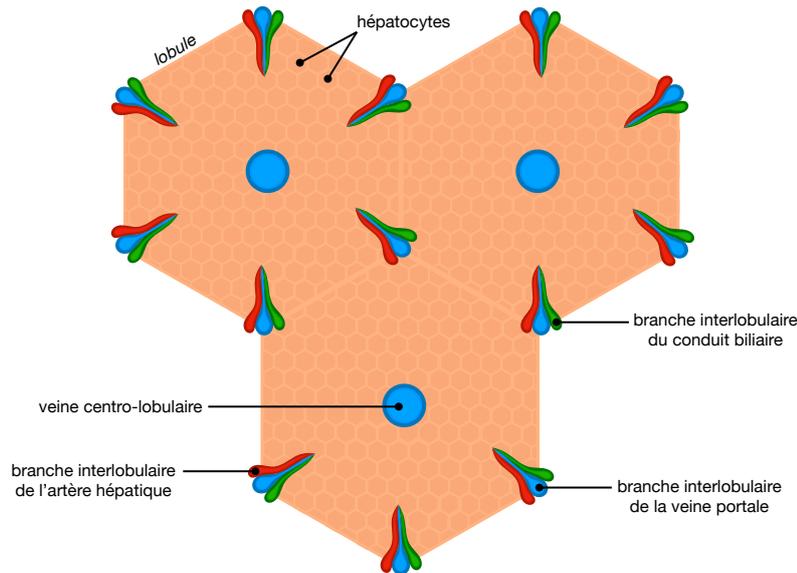


FIGURE 13 – Structure du tissu hépatique; les lobules sont de forme hexagonale dont les coins sont composés d'un trio de conduits que sont l'artère hépatique permettant l'oxygénation du tissu, la veine portale permettant la distribution des nutriments provenant du tractus digestif et le conduit biliaire. L'ensemble des déchets ou nutriments à distribuer sont rejetés dans la veine centro-lobulaire.

premiers organes fonctionnels à apparaître pendant l'embryogenèse puisqu'il assurera la formation des cellules hématopoïétiques dès la 4^{ème} semaine de gestation chez l'Homme et à 10 jours de gestation chez le rat. En effet, en plus de son rôle de régulateur dans le stockage et la distribution des composants énergétiques, le foie joue un rôle dans la synthèse des composants sériques et des acides biliaires permettant la bonne absorption des nutriments ainsi que dans la détoxification des produits de dégradation formés par le corps ou des xénobiotiques.

Anatomiquement, le tissu hépatique est organisé en lobules de formes hexagonales où les artères hépatiques, les branches de la veine porte et les canaux biliaires sont retrouvés à chaque coin (Muriel, 2017). L'hexagone est rempli de travées d'hépatocytes convergeant vers la veine centro-lobulaire (Figure 13). Les composés absorbés par le tractus digestif et les hormones synthétisées par le pancréas circulent dans la veine porte et sont captés par les hépatocytes. Certains xénobiotiques sont absorbés et subissent une métabolisation majeure dès leur absorption. Ce phénomène est appelé "effet de premier passage hépatique". Les hépatocytes relarguent les contenus métabolisés (nutriments, xénobiotiques métabolisés) dans la veine centro-lobulaire afin qu'ils soient pris en charge par d'autres organes. L'artère hépatique sert, elle, à alimenter le tissu en oxygène. Le tissu hépatique a également la capacité

de se régénérer permettant de pallier les atteintes hépatiques causées par les agents pathogènes ou les xénobiotiques absorbés. Dans certains cas, cette régénération n'est pas suffisante et entraîne des complications hépatiques (Muriel, 2017).

2.2.1 Atteintes hépatiques

Il existe de nombreuses pathologies du foie dont certaines sont liées aux perturbations du métabolisme. C'est le cas du NAFLD (pour "*non alcoholic fatty liver disease*") qui est défini par l'accumulation de lipides dans le foie, appelée stéatose, sans lien de causalité avec l'alcool ou infection virale. Le nombre d'hépatocytes gras doit représenter plus de 5 % des hépatocytes totaux. Les risques d'apparition du NAFLD sont plus importants pour les patients obèses et présentant un diabète de type 2 (entre 40 et 70 % de prévalence chez ces derniers). Le NAFLD peut évoluer en NASH (pour "*non alcoholic steato-hepatitis*") : l'accumulation de gras dans les hépatocytes se propage dans le tissu hépatique entraînant une inflammation du tissu et pouvant entraîner à son tour une fibrose hépatique. Cette inflammation hépatique augmente également la résistance à l'insuline. Les risques sur le long terme sont l'apparition d'une cirrhose et de carcinome hépatocellulaire. Actuellement, la NASH est la deuxième pathologie des demandeurs de transplantation hépatique aux Etats-Unis (Hammerich & Tacke, 2017 ; Takaki *et al.*, 2017).

2.2.2 Atteintes hépatiques et PE

A notre connaissance, seule une étude épidémiologique étudie l'impact des PE sur l'apparitions d'atteintes hépatiques. Verstraete *et al.* (2018) retrouve une augmentation du risque d'apparition de NAFLD pour les adolescents les plus exposés au BPA.

Au niveau des études *in vivo* (Tableau 10), une augmentation du poids du foie accompagnée d'une augmentation de la quantité de tissu adipeux et du poids général est observée chez des rates adultes exposées à 50 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{j}$ de BPA ou de BPS pendant 10 jours après la naissance (Ahsan *et al.*, 2018). Cependant, aucune autre mesure n'a été effectuée afin d'explorer plus en profondeur cette hépatomégalie car l'étude porte plus particulièrement sur les troubles reproducteurs. Meng *et al.* (2018) ont observé une augmentation de la quantité de TAG intra-hépatique chez des souris

exposées *in utero* jusqu'au sevrage à 100 ng/kg/j de BPA ou de BPS. Aucune hépatomégalie n'est associée, mais ces résultats sont confirmés par des études de métabolomiques et d'expressions d'ARNm. Ces auteurs montrent dans une deuxième expérience (Meng *et al.*, 2019) que cette même exposition au BPA entraîne de nouveau les mêmes effets avec une augmentation de l'alanine aminotransférase (ALAT) circulante, enzyme retrouvée dans le cytoplasme des hépatocytes et augmentée en cas de cytolysse hépatique. Les auteurs mesurent également une augmentation du stress oxydatif dans les hépatocytes. Un stress oxydatif et une augmentation de l'ALAT et de l'aspartate aminotransférase (ASAT) sont également retrouvés par Zhang *et al.* (2018a) chez des souris mâles exposées à de fortes doses de BPS (5000 µg/kg/j) pendant 4 semaines. Cependant, les analyses microscopiques des coupes de foie ne semblent pas montrer d'atteinte importante du tissu hépatique. A l'inverse, Kabuto *et al.* (2004) n'ont pas observé une augmentation du stress oxydatif dans le foie à la suite d'une exposition à de faibles doses de BPA (5 et 10 µg/kg/j) *in utero* et post-natale chez des souris mâles.

Après une exposition *in utero* et post-natale de 20 jours à 100 mg/kg/j de TCS, Weber *et al.* (2022) observent une augmentation de l'ALAT circulante sans modification du poids du foie et associée à des atteintes du tissu hépatique (Tableau 11). L'analyse du séquençage ARN du foie montre également une augmentation de la transcription des voies codant pour l'inflammation, la fibrose et le stress oxydant. Ma *et al.* (2020) ont également observé une diminution et une augmentation des réserves en glycogène et triglycérides hépatiques respectivement. Ces modifications sont fortement plus importantes avec la dose et l'âge. Zorrilla *et al.* (2009) observent une augmentation significative du poids du foie lors de la mesure de la composition corporelle après exposition de rongeurs à différentes doses de TCS (100, 200 et 300 mg/kg/j). Cependant, aucune exploration supplémentaire n'a été faite car l'étude porte sur la reprotoxicité du TCS.

Vo *et al.* (2010) ont également montré une augmentation du poids du foie lors de la mesure de la composition corporelle de rats exposés au MP mais l'étude portant sur la reproduction, aucune analyse supplémentaire n'a été faite (Tableau 12). Aucune étude n'a étudié, à notre connaissance, l'impact du MP sur le métabolisme du rongeur.

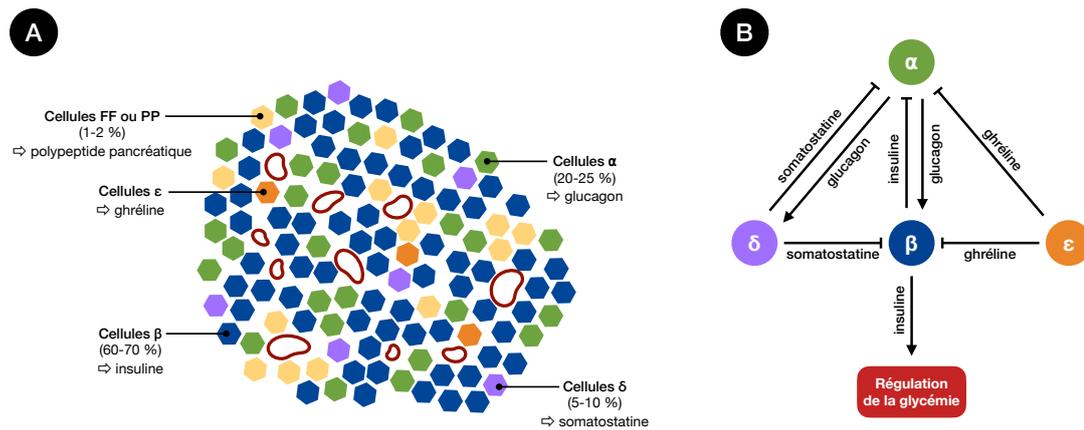


FIGURE 14 – L'îlot de Langerhans (A) est composé de différentes cellules sécrétrices communiquant entre elles grâce aux différentes hormones qu'elles sécrètent (B). La présence de ces îlots et la bonne communication entre les cellules le composant permet au corps de réguler la glycémie.

2.3 Le pancréas

Le pancréas (Slack, 1995; Norman & Henry, 2015) possède 2 origines embryologiques différentes car il provient de la fusion de 2 bourgeons de prolifération de l'endoderme de l'extrémité distale de l'intestin antérieur. Le développement du pancréas se fait de la 5^{ème} à la 10^{ème} semaine d'aménorrhée chez l'Homme et à 11-12 jours de gestation chez le rat. L'endoderme donnera naissance à la partie exocrine et aux canaux excréteurs ainsi qu'aux différentes cellules endocrines qui se rassembleront secondairement en amas afin de former les îlots de Langerhans (Hebrok & German, 2016). La taille de ces îlots de Langerhans est différente selon le développement embryonnaire, l'adolescence, l'état nutritionnel, ... La partie exocrine du pancréas synthétise des enzymes qui seront activées dans l'intestin et qui permettent la digestion et l'absorption des nutriments tels que les lipases, l'amylase et les protéases. La partie endocrine du pancréas synthétise des hormones (Figure 14.A) :

- Le glucagon; hormone hyperglycémiant produite par les cellules α des îlots de Langerhans libérée dans le sang en phase catabolique afin d'entraîner la néoglucogenèse et la lipolyse.
- L'insuline; hormone hypoglycémiant produite par les cellules β des îlots de Langerhans et libérée dans le sang en phase anabolique afin d'entraîner la glycogénogenèse et la néolipogenèse.
- La somatostatine; hormone produite par les cellules δ des îlots de Langerhans

qui permet de réguler le débit d'insuline et de glucagon et qui a une action inhibitrice sur la thyroestimuline (TSH) produite par l'hypothalamus.

- La ghréline ; hormone synthétisée par les cellules ϵ des îlots de Langerhans et qui permet de réguler l'appétit.
- Le polypeptide pancréatique ; hormone inhibant la synthèse des enzymes pancréatiques exocrine et synthétisée par les cellules F ou PP des îlots de Langerhans.

L'ensemble de ces cellules communiquent entre-elles grâce aux hormones produites par la partie endocrine du pancréas (Figure 14.B). Les îlots sont également innervés par le système sympathique, celui-ci pouvant également conditionner la libération de certaines hormones (Norman & Henry, 2015).

2.3.1 L'insuline

L'insuline (Bhagavan & Ha, 2011 ; Norman & Henry, 2015 ; Litwack, 2018) est un polypeptide dont le gène codant se trouve sur le bras court du chromosome 11. Sa biosynthèse se fait en plusieurs étapes (Figure 15). La protéine traduite est appelée pré-pro-insuline. C'est une protéine de 108 aa contenant une chaîne A, B et C ainsi qu'une chaîne de 24 aa appelée peptide signal. Ces 24 aa sont éliminés donnant alors une protéine de 84 aa appelée pro-insuline. Cette pro-insuline possède également des ponts disulfures entre les cystéines des chaînes A et B. La chaîne C est ensuite éliminée par action d'endopeptidase et de carboxypeptidase libérant l'insuline fonctionnelle. Cette chaîne C est également appelée peptide C et sera dosée en biologie médicale pour assurer le suivi des pathologies métaboliques notamment. La production d'insuline par les cellules β des îlots de Langerhans résulte de la stimulation de celles-ci par différents mécanismes :

- L'augmentation de la concentration de glucose dans le sang ; le glucose se fixe aux récepteurs GLUT2 (transporteur de glucose 2) des cellules β entraînant une augmentation de la production et de la libération d'insuline.
- La présence de glucose dans le tube digestif ; du fait du rôle synergique des hormones digestives telles que la sécrétine, la gastrine, la cholécystokinine (CCK) ou le peptide insulino-trope dépendant du glucose (GIP pour "*gastric inhibitory polypeptide*").

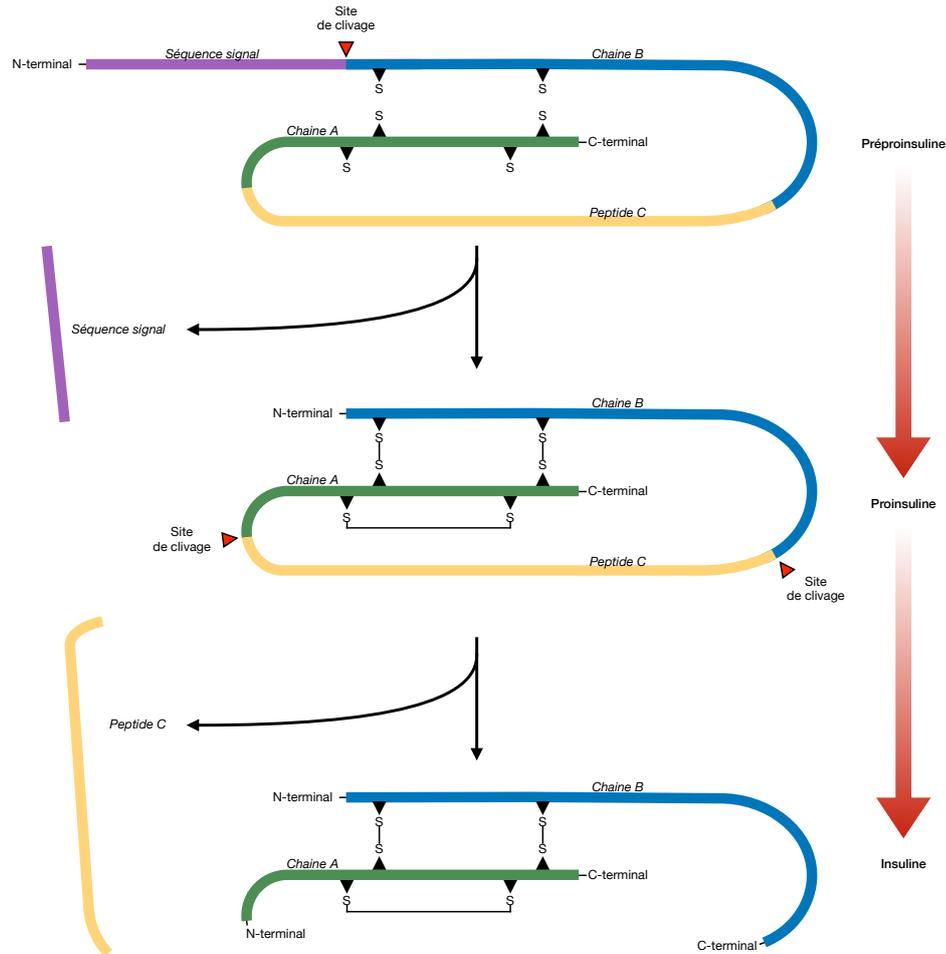


FIGURE 15 – Les différentes étapes de maturation de l’insuline dans les cellules β des îlots de Langerhans. La maturation produira 2 composés libérés dans le sang : l’insuline et le peptide C (adapté de Kaufman, 2011).

- L’augmentation de la concentration sanguine en acides aminées (arginine, leucine, lysine), acides gras, corps cétoniques, glucagon et en hormones hypophysaires telles que l’hormone de croissance (GH pour “*growth hormone*”), l’hormone adrénocorticotrope (ACTH pour “*adrenocorticotropin hormone*”) et la TSH.
- La stimulation vagale comme le goût ou l’odeur.

L’insuline libérée dans le sang va se fixer aux récepteurs cytoplasmiques des cellules du foie, des muscles et du tissu adipeux. Sa libération dans le temps est pulsatile en fonction des repas.

Les récepteurs à l’insuline (Figure 16) (Bhagavan & Ha, 2011 ; Norman & Henry, 2015 ; Litwack, 2018) sont des tyrosyl-kinases exprimés au niveau membranaires. Ils

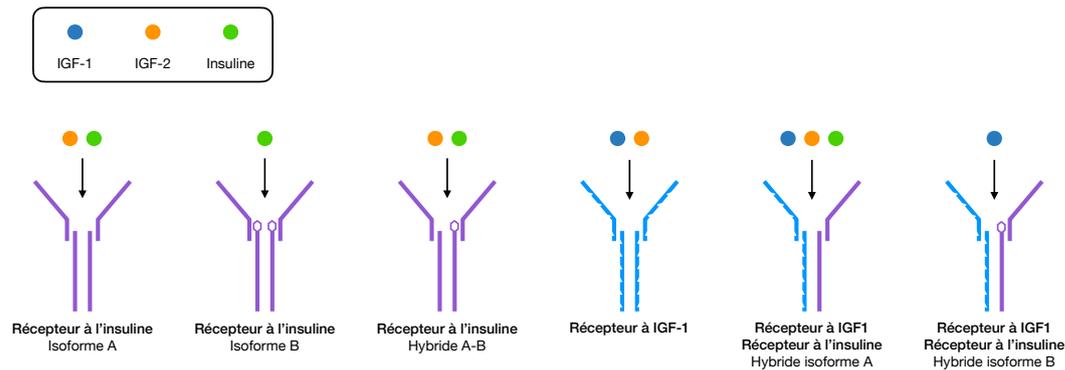


FIGURE 16 – Les différents isoformes existants du récepteur à l'insuline. Seul l'isoforme B est spécifique à l'insuline. Les autres isoformes peuvent aussi bien être fixés par l'insuline ou les IGF ("*insulin-like growth factor*"), produits par le foie, qui régulent la croissance des tissus (adapté de Norman & Henry, 2015).

sont très spécifiques et leur nombre et affinité est auto-régulé. Il existe différents isoformes de récepteurs et la plupart ne sont pas spécifiques à l'hormone insuline, mis à part l'isoforme B. Certains tissus produisent des protéines ressemblant à l'insuline ; il en existe 2 : IGF-1 et IGF-2 (pour "*insulin-like growth factor*" 1 et 2). Elles sont synthétisées par le foie et sont des hormones régulatrices de la croissance.

Une fois l'insuline fixée à son récepteur, 2 voies cellulaires sont activées (Figure 17) :

- La voie PI3K (phosphoinositide 3-kinases) ou AKT (autre nom de la PKB pour protéine kinase B) ; voie la plus importante, elle permet la synthèse de GLUT4 (transporteur de glucose 4), une protéine de transport membranaire permettant l'absorption du glucose par la cellule. Elle permet également d'activer les voies de synthèse de glycogène et de protéine.
- La voie MAPK (pour "*mitogen activated protein kinase*") qui permet l'expression de gènes importants pour la différenciation et croissance cellulaire.

2.3.2 Le glucagon

Le glucagon (Bhagavan & Ha, 2011 ; Norman & Henry, 2015 ; Litwack, 2018) est une des hormones hyperglycémiantes du corps, synthétisée uniquement par les cellules α des îlots de Langerhans dans le pancréas. Il est issu du pré-proglucagon composé de différentes sous-sections et est transformé en pro-glucagon, un polypeptide de 180 aa. Ce pro-glucagon, une fois métabolisé par la pro-protéine convertase 2,

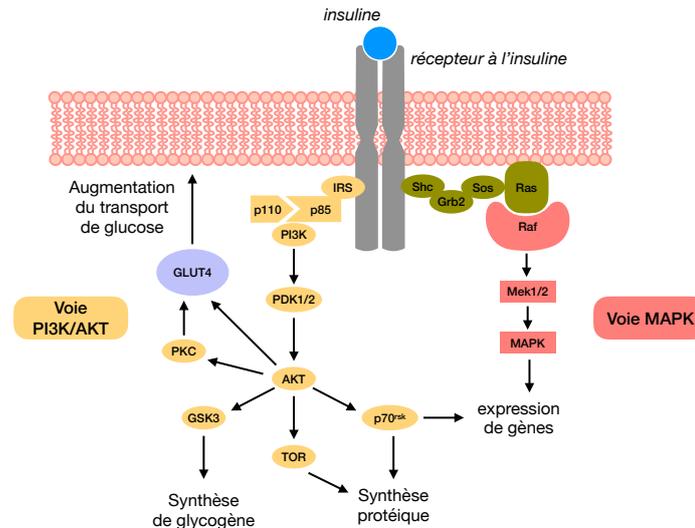


FIGURE 17 – Réponse cellulaire induite par la fixation de l'insuline à son récepteur (adapté de Korck, 2003). Deux voies sont activées, la voie PI3K/ AKT (autre nom de la protéine kinase B) et la voie MAPK (pour "mitogen activated protein kinase"). L'activation de ces 2 voies va induire la synthèse de glycogène, la synthèse protéique et l'expression de différents gènes, notamment de la croissance cellulaire. La voie PI3K/ AKT va également permettre d'augmenter le transport de glucose grâce à l'expression membranaire du transporteur de glucose 4 (GLUT4). Grb2, "growth factor receptor-bound protein 2"; GSK3, "glycogen synthase kinase 3"; IRS, "insulin receptor substrate"; Mek, "mitogen-activated protein kinase kinase"; p70^{rsk}, S6-H1 kinase; p85, protéine p85; p110, sous unité de PI3K; PDK, "phosphoinositide-dependent kinase"; PKC, protéine kinase C; RAF, "rapidly accelerated sarcoma protein"; RAS, "rat sarcoma virus protein"; Shc, protéine Shc; SOS, "son of sevenless protein"; TOR, "target of rapamycin".

retrouvée dans les cellules α des îlots de Langerhans, donnera le glucagon, un polypeptide de 29 aa. Sa sécrétion est stimulée par :

- La diminution de la concentration de glucose dans le sang.
- La diminution du taux d'acides gras circulants.
- La stimulation β -adrénergique.
- Le stress, l'effort musculaire, le jeûne ou une infection par un agent pathogène.
- Différentes hormones telles que les catécholamines (adrénaline, noradrénaline, ...)

Une fois libéré dans le sang, le glucagon va se fixer via son RCPG au foie, aux muscles ou au tissu adipeux afin de permettre la glycogénolyse, la lipolyse et la protéolyse (Figure 18.A). Le glucagon possède une demi-vie plasmatique de 5 minutes et est dégradé entièrement par le foie. Il existe 2 autres isoformes du glucagon qui sont synthétisés par l'intestin, les GLP-1 et 2 (pour "glucagon-peptide like" 1 et 2) qui auront des impacts systémiques relativement similaire au glucagon (Figure 18.B).

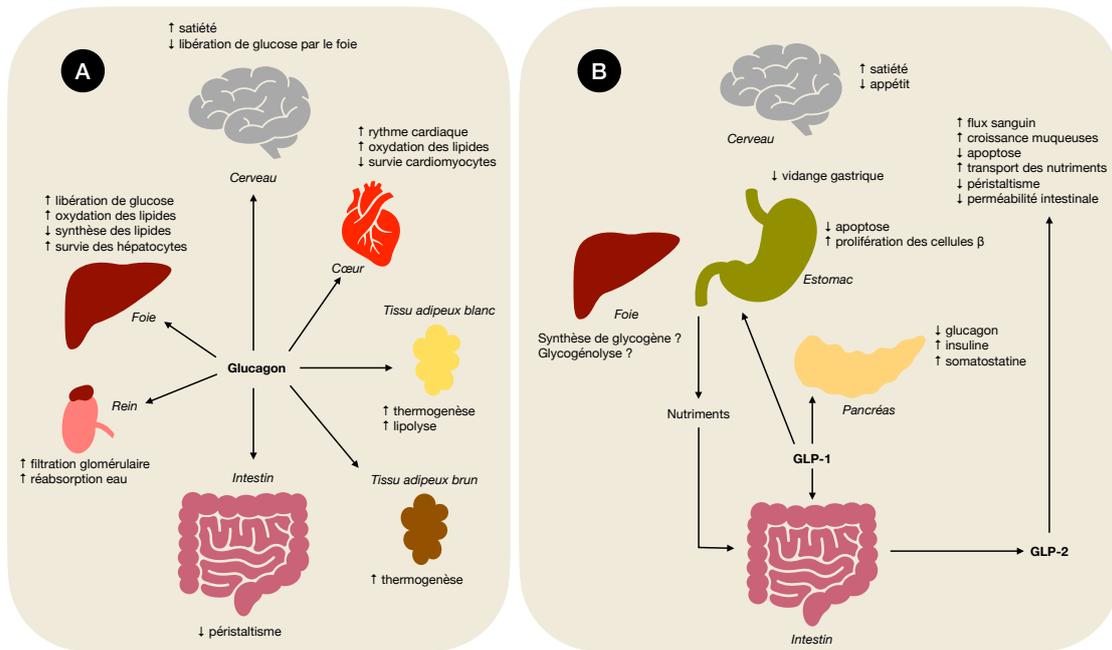


FIGURE 18 – Impact physiologique du glucagon synthétisé par le pancréas (A) (adapté de Campbell & Drucker, 2015) et des isoformes GPL-1 et 2 ("glucagon-peptide like" 1 et 2) synthétisés par l'intestin (B) (adapté de Norman & Henry, 2015).

2.3.3 Autres hormones régulant la glycémie

Il existe de nombreuses hormones qui peuvent avoir un effet sur la glycémie (Norman & Henry, 2015). L'insuline étant la seule hormone hypoglycémiant du corps, elles auront donc toute un effet hyperglycémiant :

- Le cortisol va entraîner une augmentation de la production et de la libération de glucose par le foie. Il va également stimuler la lipolyse par fixation aux récepteurs du tissu adipeux. Au niveau musculaire, il va stimuler la libération d'acides aminés dans le sang.
- Les catécholamines (noradrénaline et adrénaline) sont synthétisées par la médullosurrénale et vont activer la néoglucogenèse et la glycolyse via les récepteurs β_2 ainsi que la lipolyse via les récepteurs β_3 . Elles vont également stimuler la production de glucagon et inhiber la production d'insuline.
- Les hormones thyroïdiennes T_3 et T_4 ont un effet hyperglycémiant par l'augmentation de l'absorption intestinale de glucose et l'activation de la glycolyse hépatique. Elles vont également avoir un effet hypercholestérolémiant et favoriser la lipogenèse.

2.3.4 Diabètes

2.3.4.1 Physiopathologie

Le diabète (Bhagavan & Ha, 2011; Norman & Henry, 2015; Litwack, 2018) est une pathologie chronique touchant 422 millions de personnes dans le monde selon l'OMS (*World Health Organization - Diabetes*). Cette pathologie métabolique est définie par une élévation anormale et chronique de la glycémie. Un patient est considéré comme diabétique lorsque sa glycémie à jeun est $\geq 1,26$ g/L ou est ≥ 2 g/L, et ce, 2h après l'ingestion de 75g de glucose par VO. De nombreuses complications découlent du diabète tels que les pathologies cardio-vasculaires (infarctus, accident vasculaire cérébral, athérosclérose, ...), l'insuffisance rénale (dû à l'accumulation de glucose dans les urines), la cécité ou les neuropathies des extrémités notamment au niveau du pied (on parle alors de "pied diabétique") entraînant des amputations des extrémités. Il existe plusieurs types de diabètes.

Le diabète de type 1 (Bhagavan & Ha, 2011; Norman & Henry, 2015; Litwack, 2018), ou diabète insulino-dépendant représente en France 6 % des diabètes et qui débute majoritairement avant 30 ans (Santé Publique France - Diabète). Son apparition est brutale et aucune prise de poids n'est associée. Dans ce cas, le patient ne possède aucun stock d'insuline car sa pathologie est liée à l'apparition d'anticorps dirigés contre les cellules β du pancréas.

Le diabète de type 2 (Korc, 2003; Bhagavan & Ha, 2011; Norman & Henry, 2015; Litwack, 2018), ou diabète non-insulino-dépendant, représente en France plus de 90 % des diabètes et débute majoritairement après 40 ans (Santé Publique France - Diabète). Son apparition est progressive et est souvent associée à une prise de poids. Le patient possède un stock d'insuline qui diminuera, voir disparaîtra au cours du développement de la pathologie. Son apparition est liée à une augmentation de la résistance à l'insuline dû à l'environnement de vie (sédentarité, surpoids, malnutrition, pollution, ...).

Le diabète gestationnel (Bhagavan & Ha, 2011; Norman & Henry, 2015; Litwack, 2018) est un diabète transitoire qui apparaît entre la 24^{ème} et la 28^{ème} semaine de grossesse. Les hormones hyperglycémiantes sécrétées par le placenta entraînent une augmentation de la résistance à l'insuline. Pour compenser, le pancréas va produire

une plus grande quantité d'insuline, mais certaines femmes auront un pancréas qui ne pourra pas couvrir cette augmentation de synthèse d'insuline et auront donc une élévation chronique de la glycémie. Les risques de ce diabète sont particuliers puisqu'il est délétère pour le fœtus et le bon déroulement de la gestation avec une augmentation des risques de macrosomie, de difficultés à l'accouchement, d'atteintes hépatiques, de détresse respiratoire et de morbidité fœtale et maternelle.

2.3.4.2 Diabètes et PE

Les études épidémiologiques précédemment exposées (Tableaux 7, 8 et 9) montrent une augmentation du risque de développement d'un diabète de type 2 chez l'adulte associé à l'exposition au BPS et BPA (Duan *et al.*, 2018), contrairement à Lee *et al.* (2021) et Song *et al.* (2019) qui ne retrouvent pas ces associations chez les femmes et les seniors respectivement. Seule une étude retrouve un lien entre l'exposition au TCS pendant la grossesse et l'apparition de diabète gestationnel chez la mère ainsi que l'apparition de diabète chez l'enfant (Ouyang *et al.*, 2018). De même, une étude retrouve un lien entre l'exposition des femmes au MP et l'apparition de diabète de type 1 et 2 (Lee *et al.*, 2021). Cependant, aucun lien n'est retrouvé entre l'exposition au MP et la survenue de diabète gestationnel (Bellavia *et al.*, 2019).

Sur modèle rongeur (Tableau 10), l'exposition au BPS n'a pas montré de modification de la gestion du glucose chez le rat exposé *in utero* (Morimoto *et al.*, 2022). Cependant, les auteurs observent une prolifération des cellules β dans les îlots de Langerhans. Les îlots possèdent également une taille plus importante lors d'exposition à 0,05 mg/kg/j de BPS. Guo *et al.* (2021) observe également une augmentation de la sensibilité à l'insuline chez des souris exposées chroniquement à 100 μ g/kg/j de BPS.

L'exposition au TCS (Tableau 11) a entraîné, sur des souris âgées de 60 jours, une intolérance au glucose et une résistance à l'insuline lors d'exposition *in utero* à 10 mg/kg/j (Hua *et al.*, 2019). Cependant, aucune modification de la gestion du glucose n'a été observée à 30 jours. Ma *et al.* (2020) ont également rapporté des impacts sur la gestion de la glycémie après une exposition *in utero* jusqu'à la fin de l'allaitement chez des rats mâles exposés à 10 ou 50 mg/kg/j de TCS. Dès 21 semaines, une augmentation de la glycémie est observée pour le groupe le plus exposé. Cet impact

est retrouvé, en plus d'une augmentation de la leptine circulante, pour les 2 groupes à l'âge de 52 semaines. A cet âge, une intolérance au glucose est également observée pour la forte dose uniquement. Cet impact semble être d'autant plus important avec la prise d'âge et la dose d'exposition.

Lors d'exposition chronique, Hu *et al.* (2016a) n'ont montré aucun impact du MP à 100 mg/kg/j sur la gestion du glucose et la sensibilité à l'insuline sur le rongeur (Tableau 12).

Au vu de la bibliographie, il est complexe de définir l'impact exact des PE sur le métabolisme. La majorité des études utilisent des fortes doses (Tableaux 10, 11 et 12), ne se concentrent que sur un PE spécifiquement et ne regarde que l'impact direct ou indirect sur de petites fenêtres (*in utero*, péri-natale, ...). La question de l'impact d'un cocktail de PE sur le métabolisme et à des doses réalistes sur plusieurs générations est donc nécessaire pour répondre à la question du réel impact des PE sur l'apparition des troubles du métabolisme.

Un autre impact a été largement étudié par les études épidémiologiques : il s'agit de l'impact des PE sur le cerveau, et notamment sur le comportement. De tels liens entre PE et troubles du comportement ont été rapportées dans la cohorte EDEN (Philippat *et al.*, 2017), cohorte sur laquelle s'appuie notre étude.

Espèce étudiée	Sexe	Concentration	Age d'exposition	Effets observés	Concentrations effectives	Références
Rats	♀	0,5, 5, 50 mg BPA/kg/j 0,5, 5, 50 mg BPS/kg/j	1-10j	↑ poids à 60 j ↑ poids 30-60j ↑ poids du foie et tissu adipeux ↑ poids 30-60j ↑ poids du foie et tissu adipeux	5 mg BPA/kg/j 50 mg BPA/kg/j 50 mg BPS/kg/j	<i>Alisan et al., 2018</i>
Rats (Long-Evans)	♂	2,4 µg BPA/kg/j 2,4 µg BPA/kg/j	12j <i>iu</i> -21j PN 21-90j	↑ du poids Pas de modification du poids	2,4 µg BPA/kg/j -	<i>Akingbemi et al., 2004</i>
Souris	♂	5, 25, 100 ng BPA/kg/j	60-90j	↓ du poids	5 à 100 ng BPA/kg/j	<i>Al-Hiyasat et al., 2002</i>
Rats (Wistar)	♂	0,2, 2, 20 µg BPA/kg/j	45-90j	Pas de modification du poids	-	<i>Chitra et al., 2003</i>
Souris (C57BL/6)	♂	2, 20, 200 mg BPS/kg/j	8-12sem	Pas de modification du poids	-	<i>Dai et al., 2021</i>
Rats (Wistar)	♂	50 µg/L BPS	3-13sem	Pas de modification du poids	-	<i>Darghouthi et al., 2022</i>
Souris (C57BL/6j)	♂	100 µg BPS/kg/j	3-24sem	↑ sensibilité à l'insuline	100 µg BPS/kg/j	<i>Gao et al., 2021</i>
Souris (ICR/Jcl)	♀	2, 20 µg BPA/kg/j	11-17j <i>iu</i>	↓ du poids	2, 20 µg BPA/kg/j	<i>Homma et al., 2002</i>
Rats (Long-Evans)	♂	5 µg/L BPA; 5 µg/L BPS	21-35j	Pas de modification du poids	-	<i>Jemnitan et al., 2021</i>
Souris (ICR)	♂	5, 10 µg BPA/kg/	7j pré-gest-4sem PN	Pas de modification du poids Pas de modification du poids du foie Pas d'impact sur le stress oxydant hépatique	-	<i>Kabuto et al., 2004</i>
Rats (Sprague-Dawley)	♀ ♂	5 µg BPA ou BPS/kg/j	6-21j gest 6-21j <i>iu</i>	Pas de modification du poids et de la composition corporelle	-	<i>Kaimal et al., 2021</i>
Souris (ICR)	♀	100 ng BPA ou BPS/g/j	7j <i>iu</i> -21j PN	↑ TAG hépatique ↑ poids de 3-5sem Pas de modification du poids du foie	100 ng BPA ou BPS/g/j -	<i>Meng et al., 2018</i>
Souris (ICR)	♀	100 ng BPA/g/j	7j <i>iu</i> -21j PN	↑ du poids ↑ poids du foie ↑ TAG hépatique ↑ ALAT ↑ stress oxydant hépatique	100 ng BPA/g/j	<i>Meng et al., 2019</i>
Rats (Wistar)	♂	0,05, 20 mg BPS/kg/j	6j <i>iu</i> -21j PN	↓ du poids Pas de modification de la gestion du glucose	0,05 mg BPS/kg/j -	<i>Morimoto et al., 2022</i>
Rats (F344/N)	♂	0,1 mg BPA/kg/j	3j <i>iu</i> -20j PN	Pas de modification du poids	-	<i>Negishi et al., 2004</i>
Souris (ICR)	♀	0,5, 10 mg BPA/kg/j	11-19j <i>iu</i>	Pas de modification du poids	0,5, 10 mg BPA/kg/j	<i>Nikaido et al., 2004</i>
Souris (CD-1)	♂ et ♀	50 µg, 10 mg BPA ou BPS/kg/j	1-60j	Pas de modification du poids	-	<i>Shi et al., 2017</i>
Souris (CD-1)	♂	0,5, 20, 50 µg BPA ou BPS/kg/j	1-21j <i>iu</i>	Pas de modification du poids	-	<i>Shi et al., 2018</i>
Souris (CD-1)	♀	0,5, 5, 50 µg BPA ou BPS/kg/j	10-17j <i>iu</i>	Pas de modification du poids	-	<i>Tucker et al., 2018</i>
Rats (Sprague-Dawley)	♂	0,5, 5, 50 µg/L BPS	3-51sem	↑ du poids	50 µg/L BPS	<i>Ullah et al., 2021</i>
Souris (ICR)	♂	5, 50, 5000 µg BPS/kg/j	4-8sem	Pas de modification du poids Pas de modification du poids du foie ↑ ALAT et ASAT circulantes ↑ stress oxydant hépatique	- 5000 µg BPS/kg/j	<i>Zhang et al., 2018a</i>

TABLEAU 10 – Impacts du bisphénol A (BPA) et du bisphénol S (BPS) sur le métabolisme du rongeur. ALAT, alanine aminotransférase; ASAT, aspartate aminotransférase; gest, gestation; *iu*, *in utero*; PN, post-natal; TAG, triglycérides.

Espèce étudiée	Sexe	Concentration	Age d'exposition	Effets observés	Concentrations effectives	Références
Souris (ICR)	♀	1, 10, 100 mg/kg/j	12-19sem	Pas de modification du poids	-	Cao et al., 2018
Rats (Sprague-Dawley)	♀	30, 100, 300, 600 mg/kg/j	6-20j de gest	↓ du poids	300, 600 mg/kg/j	Feng et al., 2016
Souris	♂ et ♀	50, 100 mg/kg/j	8-14sem	Pas de modification du poids	-	Hao et al., 2022a
Souris (ICR)	♂ et ♀	50, 100 mg/kg/j	1-21j	↓ du poids	50, 100 mg/kg/j	Hao et al., 2022b
Souris (ICR)	♂ et ♀	10 mg/kg/j	6-14j <i>in</i>	Pas de modification de la gestion du glucose à 30j ↓ du poids à la naissance ↑ du poids jusqu'à 60j ↑ du poids du tissu adipeux Intolérance au glucose à 60j Résistance à l'insuline à 60j ↑ consommation nourriture	10 mg/kg/j	Hua et al., 2019
Souris (C57BL/6)	♂	10, 100 mg/kg/j	4-19sem	Pas de modification du poids ↑ du poids du foie	- 100 mg/kg/j	Huang et al., 2020
Souris (C57BL/6)	♂	10, 100 mg/kg/j	6-19sem	Pas de modification du poids	-	Huang et al., 2023
Rats (Wistar)	♂	5, 10, 20 mg/kg/j	10-19sem	Pas de modification du poids ↓ cholestérolémie	20 mg/kg/j	Kumar et al., 2009
Rats (Sprague-Dawley)	♂	10, 50 mg/kg/j	1j <i>in</i> -21j PN	Pas de modification du poids Pas de modification de la gestion du glucose à 3 et 21sem ↑ glycémie à 3sem ↑ glycémie à 21sem Intolérance au glucose à 52sem ↑ glycogène hépatique à 21sem ↑ glycémie à 52sem ↓ glycogène hépatique à 52sem ↑ leptine ↑ TAG hépatique à 52sem	50 mg/kg/j 10, 50 mg/kg/j	Ma et al., 2020
Rats (Wistar)	♂	3, 5 mg/kg/j	1-28 j	↓ du poids	3, 5 mg/kg/j	Mandal et al., 2020
Rats (Holzman)	♂ et ♀ ♂ et ♀ (F2)	0,1, 4, 40, 150 mg/kg/j	6j <i>in</i> -21j PN	Pas de modification du poids (F1) ↓ poids (F2)	0,1, 4, 40, 150 mg/kg/j	Przyjalka et al., 2020
Souris (C57/B6)	♂	100 mg/kg/j	1j <i>in</i> -20j PN	Pas de modification du poids Pas de modification du poids du foie ↑ ALAT	- 100 mg/kg/j	Weber et al., 2022
Rats (Wistar)	♂	3, 30, 100, 200, 300 mg/kg/j	21-53j	Pas de modification du poids ↑ du poids du foie	- 100, 200, 300 mg/kg/j	Zorrilla et al., 2009

TABLEAU 11 – Impacts du trichlosan sur le métabolisme du rongeur. ALAT, alanine aminotransférase ; gest, gestation ; *in*, *in utero* ; PN, post-natal, TAG, triglycérides.

Espèce étudiée	Sexe	Concentration	Age d'exposition	Effets observés	Concentrations effectives	Références
Souris (C57BL/6j)	♀	100 mg/kg/j	4-16sem	Pas de modification de la consommation de nourriture Pas de modification du poids Pas de modification de la gestion du glucose Pas de modification de la sensibilité à l'insuline ↑ poids tissu adipeux	- 100 mg/kg/j	Hu et al., 2016a
Rats (Wistar)	♂	0,1, 1 % de MP	4-12sem	Pas de modification du poids	-	Oishi, 2004
Rats (Sprague-Dawley)	♀	62,5, 250, 1000 mg/kg/j	21-40j	Pas de modification du poids ↑ poids du foie	- 1000 mg/kg/j	Vo et al., 2010

TABLEAU 12 – Impacts du méthylparabène (MP) sur le métabolisme du rongeur.

Chapitre 3

Cerveau, neuroendocrinologie et comportement

3.1 Constitution et protection du système nerveux central

Le système nerveux est divisé en 2 parties : le système nerveux central, composé du cerveau et de la moelle épinière, qui est le centre de commande du corps, et le système nerveux périphérique, constitué des nerfs, qui permet la transmission des informations (Johns, 2014; Felten *et al.*, 2016). L'unité cellulaire de ce système est le neurone (Figure 19), cellule composée d'un corps cellulaire et de fibres nerveuses receveuses d'informations appelées dendrites, ainsi que d'un prolongement permettant la transmission de l'information, appelé axone. L'information est propagée le long de l'axone par une série de modification de la polarité de la membrane créant un potentiel d'action du cône axonale vers la connexion axone-neurone appelé synapse (Figure 20.A). De là, le potentiel d'action va entraîner l'ouverture des canaux calciques activant la libération des neurotransmetteurs encapsulés dans des vésicules synaptiques (noradrénaline, dopamine, sérotonine, acétylcholine, ...) (Figure 20.B).

Le système nerveux est compacté en 2 substances : la substance grise, où se trouvent les corps cellulaires des neurones, et la substance blanche, où se concentrent les axones. Le système nerveux central est également composé d'autres cellules appelées cellules gliales (Figure 19) jouant un rôle aussi bien dans le neurodéveloppement, la myélinisation des axones, l'homéostasie ainsi que la protection du tissu cérébrale (Johns, 2014; Felten *et al.*, 2016) :

- Les astrocytes sont les cellules gliales les plus nombreuses ; ils sont composés de nombreux prolongements qui entourent les synapses ainsi que les vaisseaux sanguins et les méninges. Ils vont permettre la création de barrières

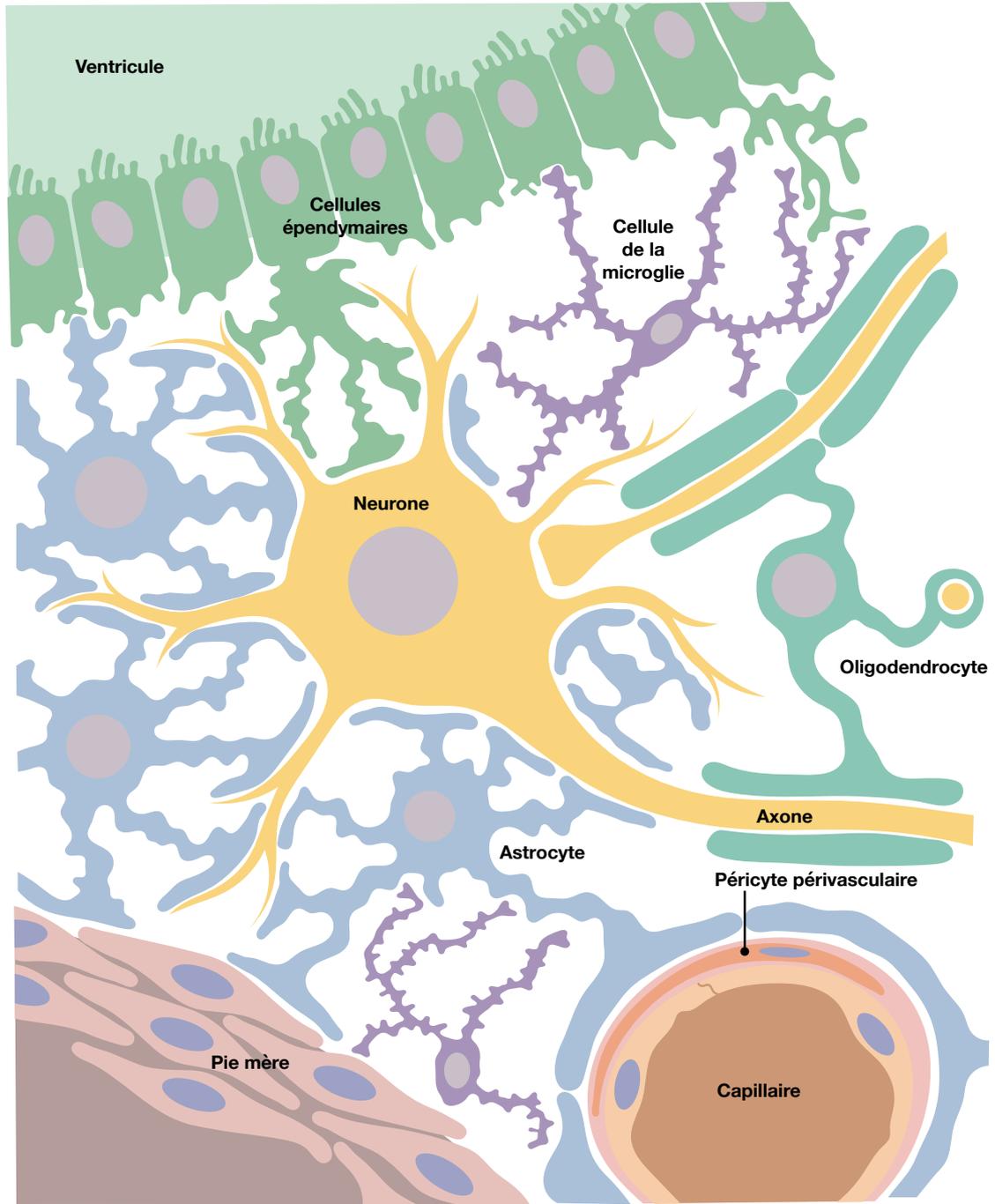


FIGURE 19 – Schéma des cellules du système nerveux central; le neurone permet la transmission des informations et l'ensemble du tissu est soutenu et protégé par les cellules gliales (adapté de Felten *et al.*, 2016)

protectrices du système nerveux. Ils vont également permettre la distribution de ressources énergétiques aux neurones.

- Les cellules de la microglie sont des cellules de défense du système nerveux, leurs prolongements peuvent bouger afin de "surveiller" leur environnement. Elles ont la capacité de phagocyter les débris et les pathogènes et peuvent remodeler ou supprimer les connexions synaptiques.
- Les oligodendrocytes sont des cellules de soutien et de protection des neurones ; ils vont entourer les axones grâce à leurs prolongations et former la gaine de myéline. Cette gaine permet d'augmenter la vitesse de propagation du potentiel d'action le long de l'axone.
- Les cellules épendymaires sont des cellules épithéliales permettant la séparation du système nerveux et des ventricules cérébraux où circule le LCS.

Le système nerveux est isolé du LCS, du sang et donc de l'environnement en partie grâce à ces cellules. Il existe donc 3 barrières de contacts (Johns, 2014 ; Felten *et al.*, 2016) :

- Une barrière système nerveux - LCS ; elle est perméable, due à une faible jonction des cellules épendymaires afin de faciliter l'évacuation des déchets du système nerveux dans le LCS.
- Une barrière LCS - sang peu perméable due à la présence de nombreuses jonctions serrées et de protéines d'efflux. Cette barrière permet la captation de nutriments et l'évacuation du LCS.
- Une barrière système nerveux - sang aussi appelée BHE qui est non perméable (Figure 21). Les vaisseaux sont composés d'une seule cellule endothéliale contenant de nombreuses mitochondries et de nombreuses jonctions serrées rendant le tout imperméable. De plus d'autres cellules, ainsi que les pieds des astrocytes, viennent entourer ces vaisseaux et donc protéger le système nerveux de toute molécule exogène. Seules des molécules très lipophiles pourront traverser la BHE.

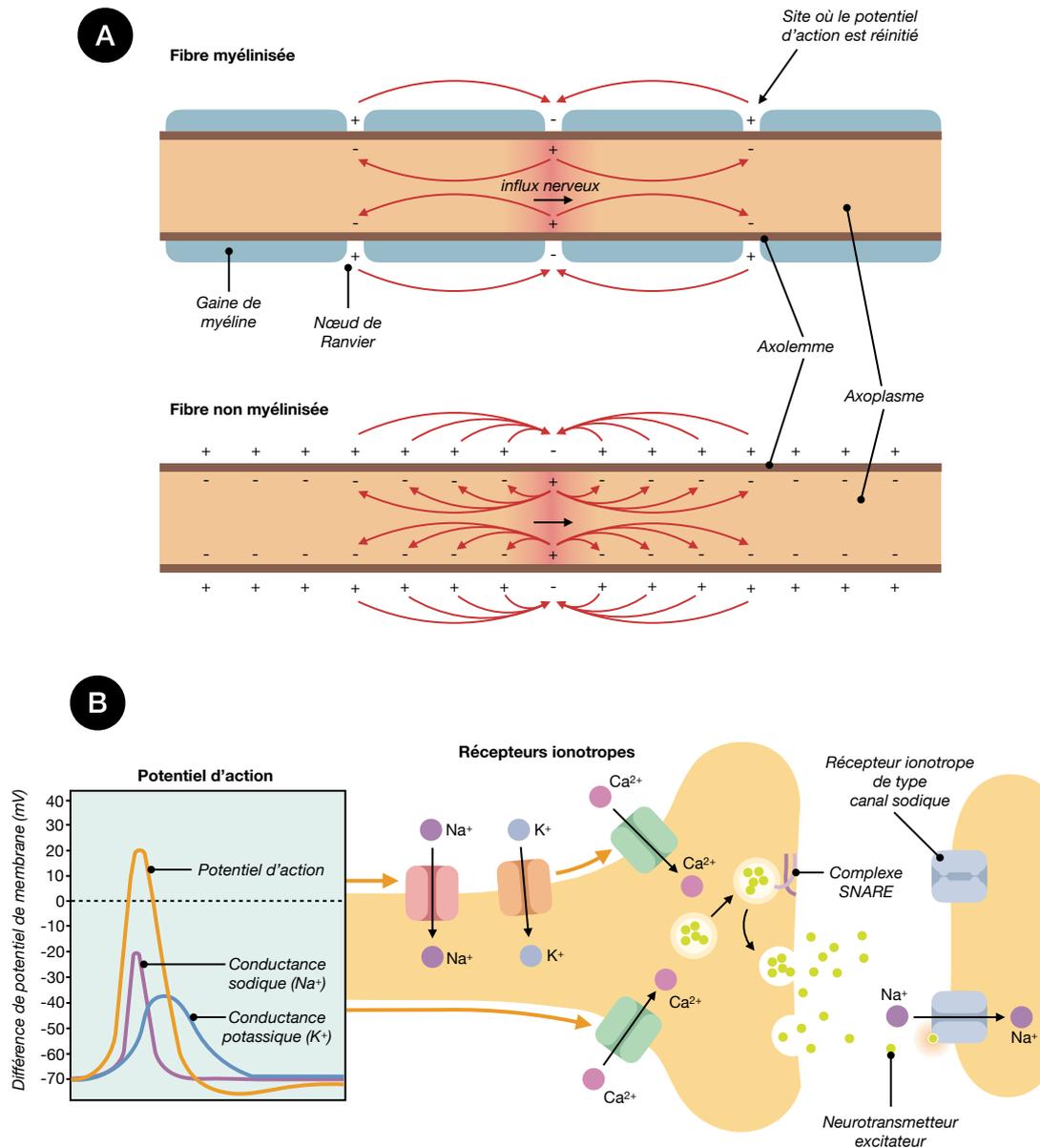


FIGURE 20 – Propagation du message nerveux *via* la modification du potentiel de membrane le long de l'axone, créant un potentiel d'action (A) et entraînant la libération des neurotransmetteurs au niveau de la synapse par ouverture des canaux calciques (B) (adapté de Felten *et al.*, 2016). SNARE, "soluble N-ethylmaleimide-sensitive-factor attachment protein receptor".

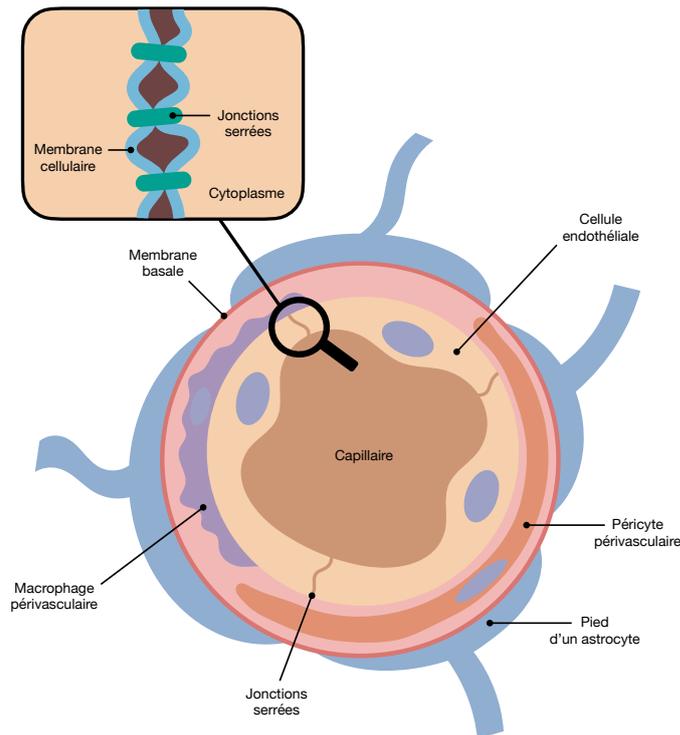


FIGURE 21 – Barrière hémato-encéphalique permettant d'isoler le système nerveux central de l'environnement; seules des molécules très lipophiles parviendront à traverser cette barrière (adapté de Felten *et al.*, 2016).

Le système nerveux central est également entouré et protégé par les méninges qui sont constituées de 4 feuillets (Johns, 2014; Felten *et al.*, 2016; Møllgård *et al.*, 2023) :

- La dure mère, en contact avec l'ossature crânienne et constituée d'une couche externe et interne.
- L'arachnoïde, en contact avec la dure mère et en partie avec la pie mère via des prolongations appelées trabécules. Cet espace entre l'arachnoïde et la pie mère va permettre le passage du LCS et des vaisseaux sanguins.
- La "subarachnoid lymphatic-like membrane", ou SLYM, est situé entre l'arachnoïde et la pie mère. Ce feuillet a été découvert récemment par Møllgård *et al.* (2023) et sépare l'espace subarachnoïdien en 2 compartiments distincts. Selon ces auteurs, la SLYM aurait une structure similaire au mésothélium.
- La pie mère, en contact avec le système nerveux et notamment les astrocytes.

3.2 Le développement cérébral

Le développement cérébral commence chez l'Homme à partir de la 3^{ème} semaine du développement par l'apparition du tube neural (Johns, 2014; Felten *et al.*, 2016). Son extrémité se développera à la 4^{ème} semaine du développement pour donner 3 vésicules cérébrales primitives : le prosencéphale, le mésencéphale et le rhombocéphale. A la 5^{ème} semaine, le prosencéphale donnera notamment 2 vésicules cérébrales secondaires : le diencephale et le télencéphale, qui sera déjà divisé en 2 unités télencéphaliques qui donneront les hémisphères. A partir de la 6^{ème} semaine, le neuroépithélium donnera naissance aux neurones et aux cellules gliales, c'est la neurogenèse. Le système ventriculaire se forme également à partir de la 6^{ème} semaine tandis que les méninges apparaîtront à la 8^{ème} semaine et se développeront jusqu'à la 36^{ème} semaine. A partir du 3^{ème} mois, les neurones vont entamer une migration permettant la formation de la substance grise et de la substance blanche. A partir de là, les formations de synapses et la myélinisation des axones va commencer. Après la naissance les neurones vont continuer à se différencier et à se spécialiser.

Les étapes du développement sont fortement conservées entre les mammifères (Semple *et al.*, 2013). Il existe cependant des différences entre le neurodéveloppement chez l'Homme et chez le rongeur. Chez le rat, l'apparition du tube neural débute à 10-11 jours de gestation sur 21 jours au total. La migration des neurones ainsi que la maturation des différentes structures cérébrales se feront en grande partie après la naissance. Au sevrage, c'est à dire à 21 jours post-natal, le cerveau du raton est considéré comme équivalent à celui d'un enfant âgé de 2-3 ans. De 25 à 35 jours post-natal, le cerveau du raton sera équivalent à celui d'un enfant ou pré-adolescent de 4 à 11 ans (Semple *et al.*, 2013).

3.3 Le télencéphale : physiologie et fonctionnement des différentes structures

L'encéphale est composé de plusieurs parties (Figure 22) (Johns, 2014; Felten *et al.*, 2016). La partie supérieure est le télencéphale dont la substance grise périphérique est appelée cortex cérébral. Il est constitué de 2 hémisphères (gauche et droit)

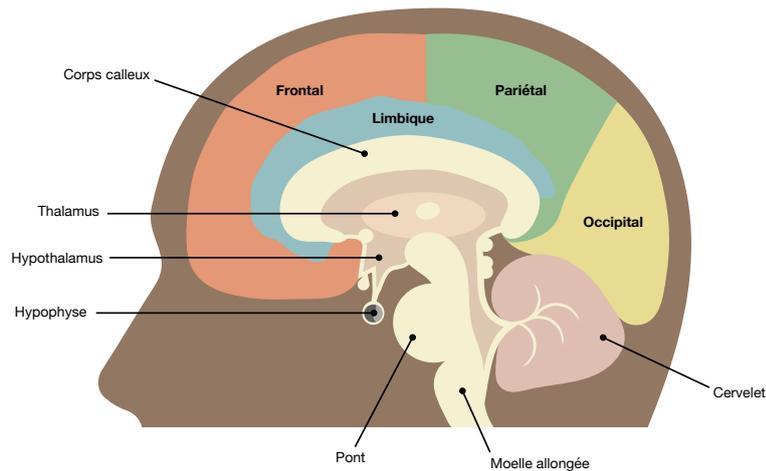


FIGURE 22 – Coupe sagittale de l'encéphale; le télencéphale est constitué de différents lobes (zones colorées) et du corps calleux recouvrant le diencephale. Le lobe temporal et l'insula ne sont pas visible sur cette coupe. Le mésencéphale se trouve entre le pont et le diencephale. Le cervelet et la moelle allongée font également partie de l'encéphale (adapté de Felten *et al.*, 2016).

formés d'une succession de bosselures et de sillons appelés gyrus. Chaque hémisphère est compartimenté en 6 lobes dont 4 lobes externes que sont le lobe frontal, le lobe pariétal, le lobe occipital et le lobe temporal. Le cortex peut également être découpé en aires dites "aires de Brodmann" numérotées de 1 à 52. Ces aires ont été identifiées de par leurs différences cytoarchitecturales par Korbinian Brodmann en 1909 et permettent, pour certaines d'entre-elles, de décrire les différentes fonctions du cortex (par exemple, les aires de Brodmann 1, 2 et 3 correspondent au cortex somato-sensoriel primaire; l'aire 4 au cortex moteur primaire et l'aire 17 au cortex visuel primaire). Cette séparation neuroanatomique est encore utilisée aujourd'hui mais également critiqué (Felten *et al.*, 2016).

Chaque hémisphère comporte également 2 lobes internes que sont :

- Le lobe limbique (Figure 23); il possède une forme d'anneau et il est constitué de multiples petites structures dont 2 très importantes :
 - L'hippocampe qui structurellement ressemble à l'animal dont il tient le nom. Il permet notamment le développement de la mémoire et la navigation dans l'espace.
 - L'amygdale qui joue notamment un rôle dans la réponse émotionnelle.
- L'insula qui est un lobe possédant de multiples fonctions allant de l'intéroception (sensation des viscères, du rythme cardiaque, ...), au mouvement, en

passant par la régulation des émotions, la prise de décision et la conscience de soi entre-autres. L'ensemble des fonctions associées à l'insula est encore exploré aujourd'hui (Benarroch, 2019).

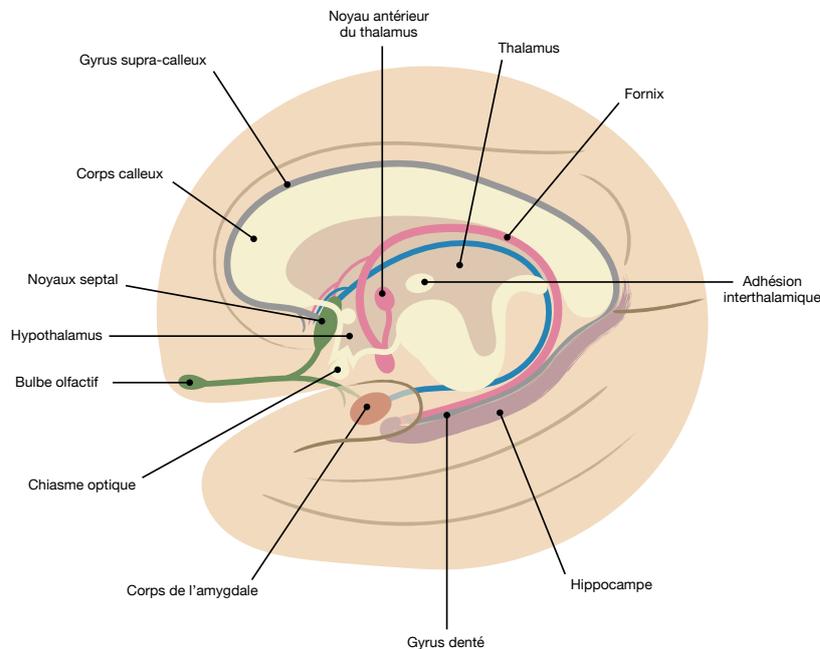


FIGURE 23 – Zoom autour du lobe limbique composé notamment de l'hippocampe et de l'amygdale ; plus en profondeur se trouve le diencéphale recouvert par le corps calleux et composé de l'hypothalamus notamment. Le bulbe olfactif possède des prolongations nerveuses se terminant dans l'insula (adapté de Felten *et al.*, 2016).

La communication entre les 4 lobes externes de chaque hémisphère se fait via le corps calleux. Pour finir, les ganglions de la base sont des noyaux de substances grises retrouvés en profondeur parmi lesquels se trouvent le corps strié, aussi appelé striatum. Ils sont responsables du mouvement volontaire, le comportement et différents processus de cognition (Johns, 2014 ; Felten *et al.*, 2016).

Malgré les similarités de description physiologique du système nerveux central entre l'Homme et le rongeur, il existe des différences d'importance des structures générales mais également des différences somato-sensorielles (Figure 24). C'est notamment le cas du bulbe olfactif, extrêmement développé chez le rongeur de par son importance dans la communication, l'exploration de l'environnement et la détection des phéromones nécessaires à la reproduction. Également, les vibrisses jouent un rôle dans l'orientation spatiale du rongeur dont les informations seront transmises au thalamus (Schröder *et al.*, 2020).

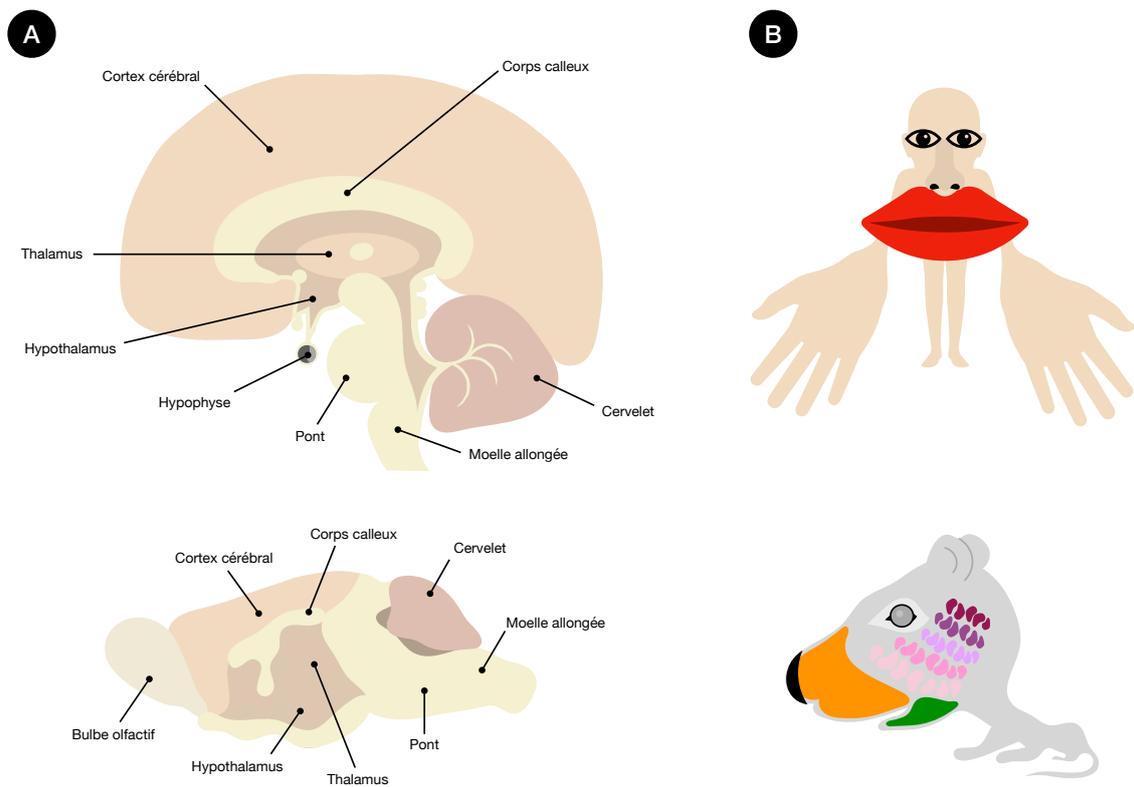


FIGURE 24 – Différences structurelles (A) et somato-sensorielles (B) entre le rongeur et l’Homme (adapté de Schroëder *et al.*, 2020 et de Johns, 2014). Au niveau somato-sensoriel, plus une zone est grosse, plus elle est sensible. Au niveau anatomique, une différence notable peut être observé au niveau du bulbe olfactif, qui est bien plus développé chez le rongeur. Cette zone est en effet extrêmement utile au rongeur pour la communication et l’exploration spatiale.

3.4 Le diencephale : zoom sur l'axe hypothalamo-hypophysaire

Le diencephale est composé de plusieurs structures d'intérêt disposées autour du 3^{ème} ventricule (Norman & Henry, 2015; Felten *et al.*, 2016). La première, le thalamus, est une structure paire composée de substance grise; il permet le relais et l'intégration des messages moteurs et régule la conscience et la vigilance. La glande pinéale est une petite partie synthétisant la mélatonine, hormone responsable du sommeil et dont la sécrétion est dépendante de la luminosité. Enfin, l'hypothalamus, situé à la base de l'encéphale sous le thalamus, le long de la paroi du 3^{ème} ventricule, permet de faire le lien entre le système neurologique et le système endocrinien. Il est composé de 14 noyaux et est relié à l'hypophyse par la tige pituitaire. L'hypothalamus est séparé en 3 zones :

- La zone périventriculaire qui contrôle l'antéhypophyse où sont retrouvés les noyaux parvocellulaires. Ils sont constitués de petits neurones sécrétant des statines (ou "*inhibiting hormones*") et libérines (ou "*releasing hormones*"). Ces hormones vont se fixer aux RCPG des cellules de l'antéhypophyse et vont donc contrôler la sécrétion des hormones hypophysaires.
- L'hypothalamus médial qui est en relation avec la posthypophyse et qui va contrôler la régulation du système nerveux végétatif. Cette région est composée des noyaux paraventriculaires et supraoptiques, aussi appelés noyaux magnocellulaires. Ils sont constitués de gros neurones sécréteurs d'hormones.
- L'hypothalamus latéral qui est le lieu d'intégration des informations du système nerveux végétatif.

L'hypothalamus est donc un centre intégrateur qui reçoit les informations de plusieurs régions et qui va entraîner des réponses motrices somatiques (comportement), viscéro-motrices et hormonales (Figure 25).

L'hypophyse (Norman & Henry, 2015; Felten *et al.*, 2016) est protégée par la selle turcique et est composée de 2 lobes : l'antéhypophyse (ou adénohypophyse) composé de cellules endocrines, et la posthypophyse (ou neurohypophyse) composée des axones des neurones hypothalamiques. La posthypophyse ne synthétise pas d'hormones mais jouera le rôle de lieu de stockage aux hormones hypothalamiques.

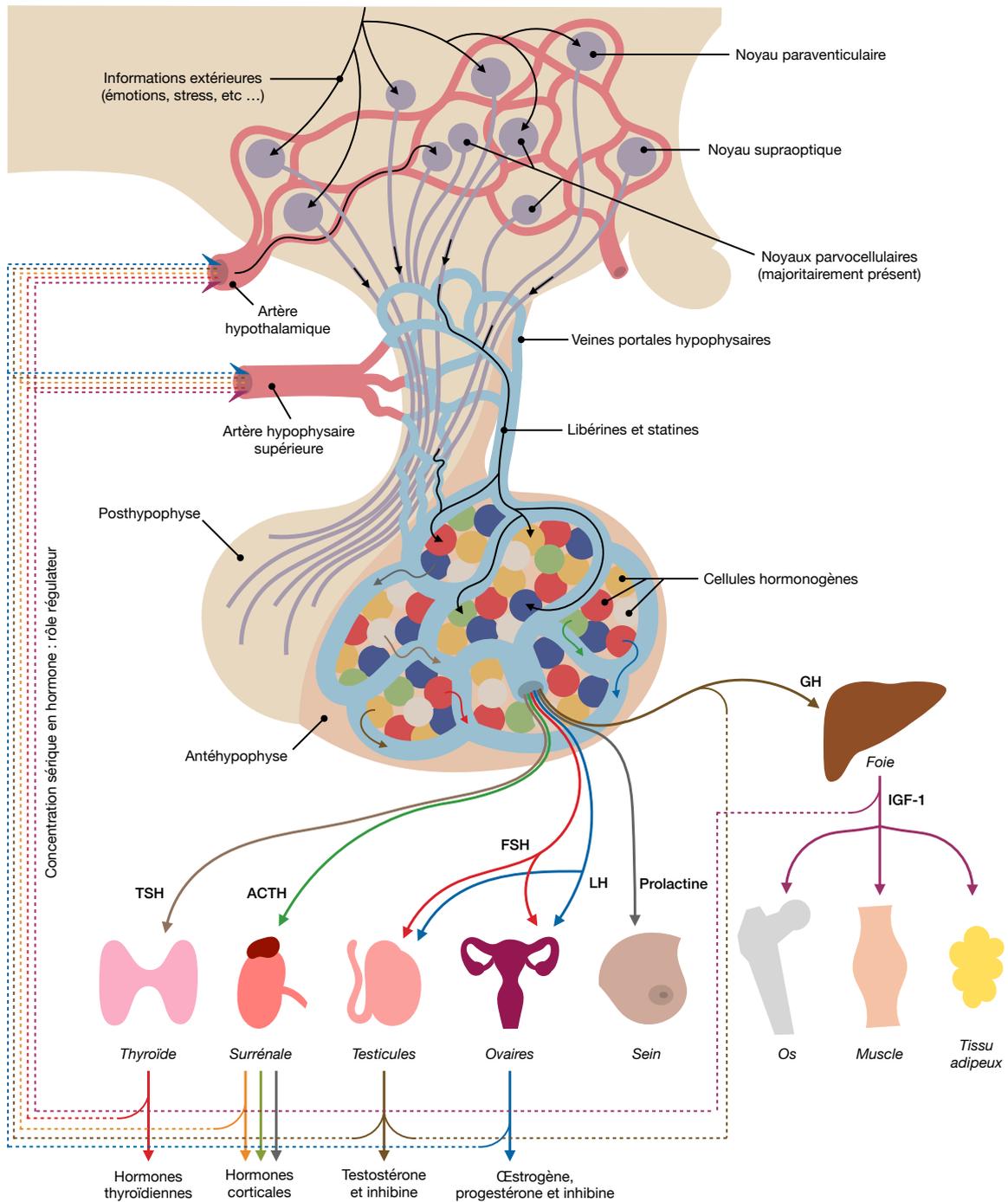


FIGURE 25 – Schéma des connexions entre l'hypophyse et l'hypothalamus ainsi que de l'impact des hormones relarguées par l'antéhypophyse sur le corps (adapté de Felten *et al.*, 2016). ACTH, hormone adrénocorticotrope; FSH, "follicle stimulating hormone"; GH, "growth hormone"; IGF-1, "insulin-like growth factor 1"; LH, "Leitniz hormone"; TSH, thyrostimuline.

Seul 2 neurohormones sont retrouvées :

- La vasopressine (ADH pour "*antidiuretic hormone*") est une hormone antidiurétique ciblant le rein, elle permet donc la réabsorption d'eau par le néphron.
- L'ocytocine est un peptide de 9 aa qui stimule les contractions utérines lors de l'accouchement (et dont le nombre de récepteur augmente à la fin de la grossesse). Cette neurohormone participe également à la lactation car sa sécrétion est stimulée par la succion lors de l'allaitement et permet la contraction myoépithéliale de la glande mammaire.

L'antéhypophyse, ou adénohypophyse, est constituée de cellules endocrines organisées autour de capillaires. Il en existe 2 grands types (Norman & Henry, 2015; Felten *et al.*, 2016) :

- Les cellules folliculaires qui ne sont pas sécrétoires ; elles joueront un rôle en immuno-endocrinologie
- Les cellules hormonogènes qui vont sécréter des hormones ; il en existe 5 types :
 - Les cellules thyrotropes vont permettre la synthèse et sécrétion de TSH.
 - Les cellules gonadotropes vont permettre la synthèse et sécrétion de l'hormone lutéinisante (LH) et l'hormone folliculostimulante (FSH).
 - Les cellules somatotropes vont permettre la synthèse et sécrétion de la GH.
 - Les cellules à proopiomélanocortine (POMC) vont permettre la synthèse et sécrétion d'ACTH et d'endorphines.
 - Les cellules à prolactine.

3.4.1 L'axe thyroïdienne

Les 2 hormones principales de l'axe thyroïdienne sont la TRH (thyroïdolibérine) synthétisée par l'hypothalamus induisant la sécrétion de TSH par l'hypophyse. La TSH se fixe aux RCPG des thyrocytes induisant la production des hormones thyroïdiennes T_3 et T_4 nécessaires à de nombreuses fonctions (Figure 26). La T_4 est une pro-hormone synthétisée par la thyroïde et sera en grande majorité libérée dans le sang afin d'être déiodée en T_3 par d'autres organes. Elle pourra également être métabolisée en T_3 active dans la thyroïde. Lorsque les hormones T_3 et T_4 sont excrétées

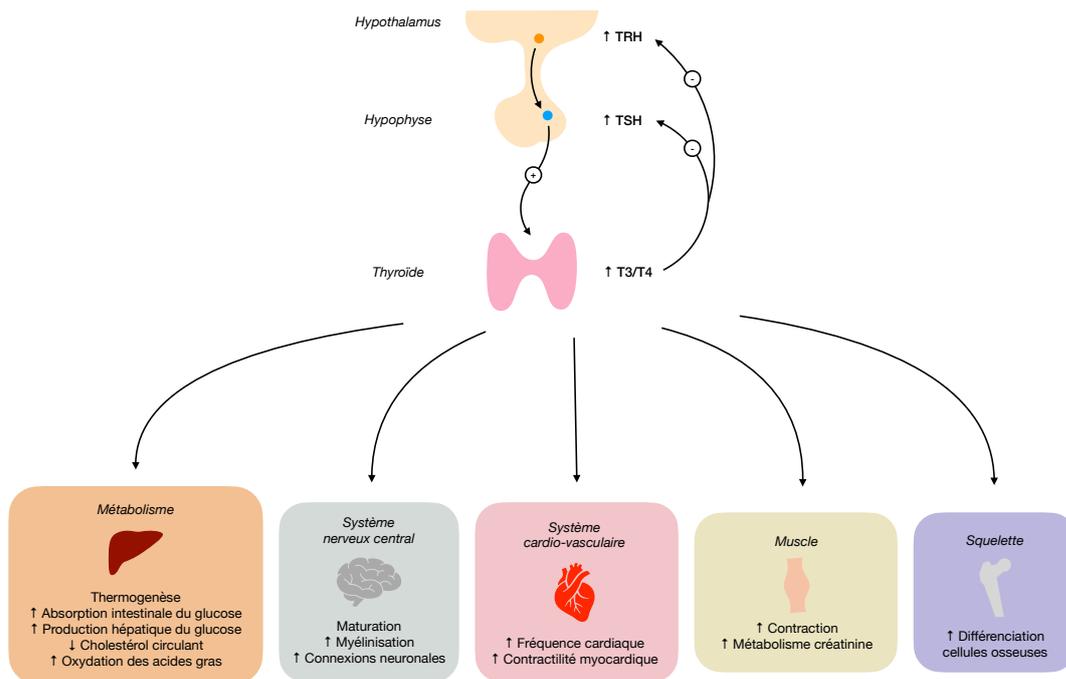


FIGURE 26 – Impacts des hormones thyroïdiennes sur les différents organes. Leur sécrétion est stimulée par la synthèse de TSH (thyroïdostimuline), elle-même stimulée par la sécrétion de TRH (thyroïdolibérine) par l'hypothalamus. Les hormones thyroïdiennes T₃ (triiodothyronine) et T₄ (thyroxine) entraînent une inhibition de la synthèse de TSH et TRH. À noter que la synthèse de TSH sera également inhibée par la somatostatine synthétisée par les cellules δ du pancréas endocrine.

dans le sang, elles se lient majoritairement à des protéines sériques telle que la TBG (pour "thyroid binding globulin"), l'albumine sérique et la TTR (Norman & Henry, 2015). Il est également possible de retrouver dans le sang les hormones T₄ et T₃ non liées en très faible quantité et qui représente la part d'hormone disponible prête à entrer dans les cellules.

La sécrétion de T₃ et T₄ entraîne également un rétrocontrôle de la sécrétion de TRH et TSH respectivement. De plus, la sécrétion de la TRH est pulsatile chez l'Homme, avec 13 pics de sécrétion par 24h, et ce majoritairement pendant la nuit. Il est également important de noter qu'une carence en iode, composé important à la production des hormones T₃ et T₄, entraîne une augmentation de la sensibilité des thyrocytes à la TSH (Norman & Henry, 2015).

3.4.2 L'axe gonadotrope

Les 4 hormones principalement sécrétées par l'axe gonadotrope sont la GnRH (pour "gonadotropin releasing hormone") et la kisspeptine, synthétisées par le noyau arqué de l'hypothalamus, la LH et la FSH synthétisées par l'hypophyse (Figure 27).

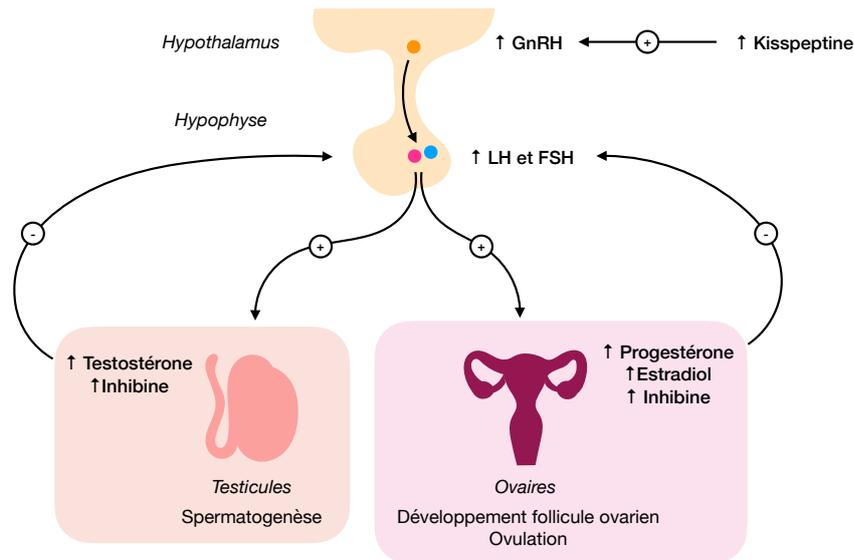


FIGURE 27 – Schéma de l'axe gonadotrope; les kisséptines sont des hormones synthétisées par le noyau arqué de l'hypothalamus. Elles vont pouvoir stimuler la production de GnRH ("gonadotropin releasing hormone") qui va elle-même stimuler la production de LH ("Leitniz hormone") et FSH ("follicle stimulating hormone") par l'anté-hypophyse. Ces dernières entraîneront la production de testostérone chez l'homme et de progestérone et d'estradiol chez la femme. Pour les 2 sexes, la LH et FSH induiront également la production d'inhibine qui inhibe la sécrétion de FSH uniquement.

La sécrétion de la GnRH est pulsatile avec 1 pic de sécrétion toutes les 90 min chez l'homme contrairement aux femmes où le pic de GnRH sera dépendant du moment du cycle ovarien. Les récepteurs aux gonadotrophines se situent au niveau des cellules de Leydig et Sertoli chez l'homme et au niveau des cellules de la thèque interne et de la granulosa chez la femme (l'ensemble de ces systèmes hormonaux sont détaillés plus loin dans le Chapitre 4) (Norman & Henry, 2015).

3.4.3 L'axe somatotrope

Les 3 hormones principalement synthétisées par l'axe somatotrope sont la SRIH (pour "somatotropin release inhibiting hormones" aussi appelée somatostatine) synthétisée par le noyau paraventriculaire de l'hypothalamus; la GHRH (pour "growth hormone releasing hormone" aussi appelée somatolibérine) synthétisée par le noyau arqué de l'hypothalamus qui entraînera la synthèse de la GH par l'hypophyse et stimule la sécrétion de IGF-1 et IGF-2 par le foie (Figure 28). La GH est l'hormone la plus abondamment produite par l'hypophyse et est produite la nuit. L'hormone SRIH a la particularité d'inhiber la production de GHRH et de GH contrairement à la ghréline synthétisée par l'estomac. L'hormone IGF-1 inhibera la production de GH par l'hypophyse (Norman & Henry, 2015).

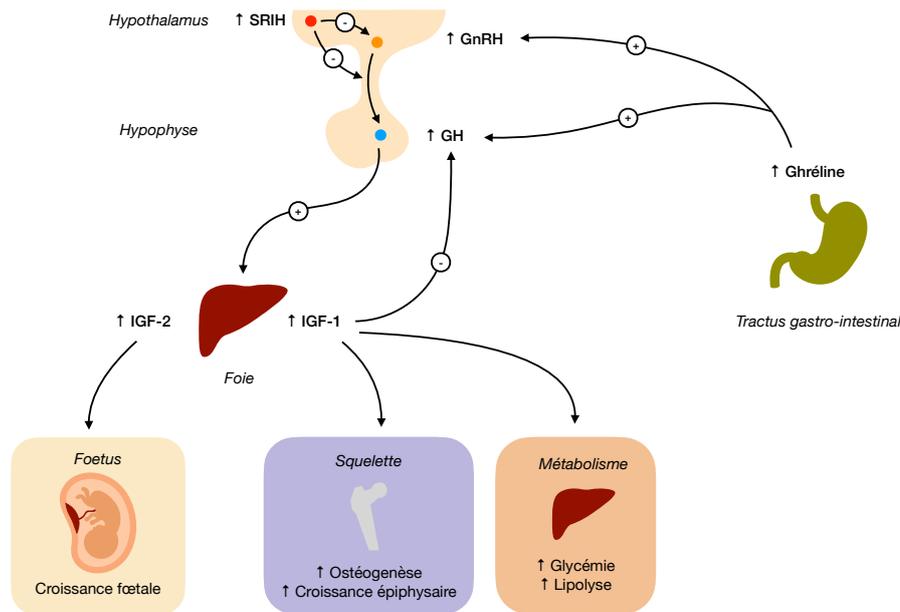


FIGURE 28 – Schéma de l'axe somatotrope et leurs conséquences sur le corps. La production de ghréline en cas de jeun court entraîne la sécrétion de GnRH ("gonadotropin releasing hormone") et de GH ("growth hormone"). Cette dernière induit la production d'IGF-1 ("insulin-like growth factor 1") par le foie afin de permettre notamment la libération de glucose et de lipides. La sécrétion d'IGF-1 permet également d'inhiber la production de GH. L'hormone IGF-2 ("insulin-like growth factor 2") sera synthétisée par le foie du fœtus. La SRIH (somatostatine), synthétisée par le noyau paraventriculaire de l'hypothalamus, permet d'inhiber la sécrétion de GnRH et GH.

3.4.4 L'axe corticotrope

Les 3 hormones principales de l'axe corticotrope sont la CRH (pour "corticotropin-releasing hormone", aussi retrouvée sous le sigle CRF pour "corticotropin-releasing factor") synthétisée par l'hypothalamus et l'ACTH synthétisée par l'antéhypophyse (Figure 29.A). La synthèse d'ACTH suit un rythme nyctéméral (synthétisée principalement le matin) et va permettre la synthèse de cortisol par la zone fasciculée de la corticosurrénale, et d'aldostérone en faible quantité par la zone glomérulée de la corticosurrénale. Le cortisol va entraîner un rétrocontrôle de la synthèse de CRH et d'ACTH, sauf en cas de brusque modification de l'homéostasie. Cependant, le cortisol potentialise la synthèse de catécholamine qui, elle-même, induit la synthèse d'ACTH. Le cortisol possède différents effets (Figure 29.B), notamment sur le métabolisme comme vu précédemment (Norman & Henry, 2015).

3.4.5 L'axe lactotrope

L'hormone synthétisée par l'axe lactotrope, la prolactine, est dépendante du neurotransmetteur dopamine synthétisée par l'hypothalamus. La dopamine exerce un

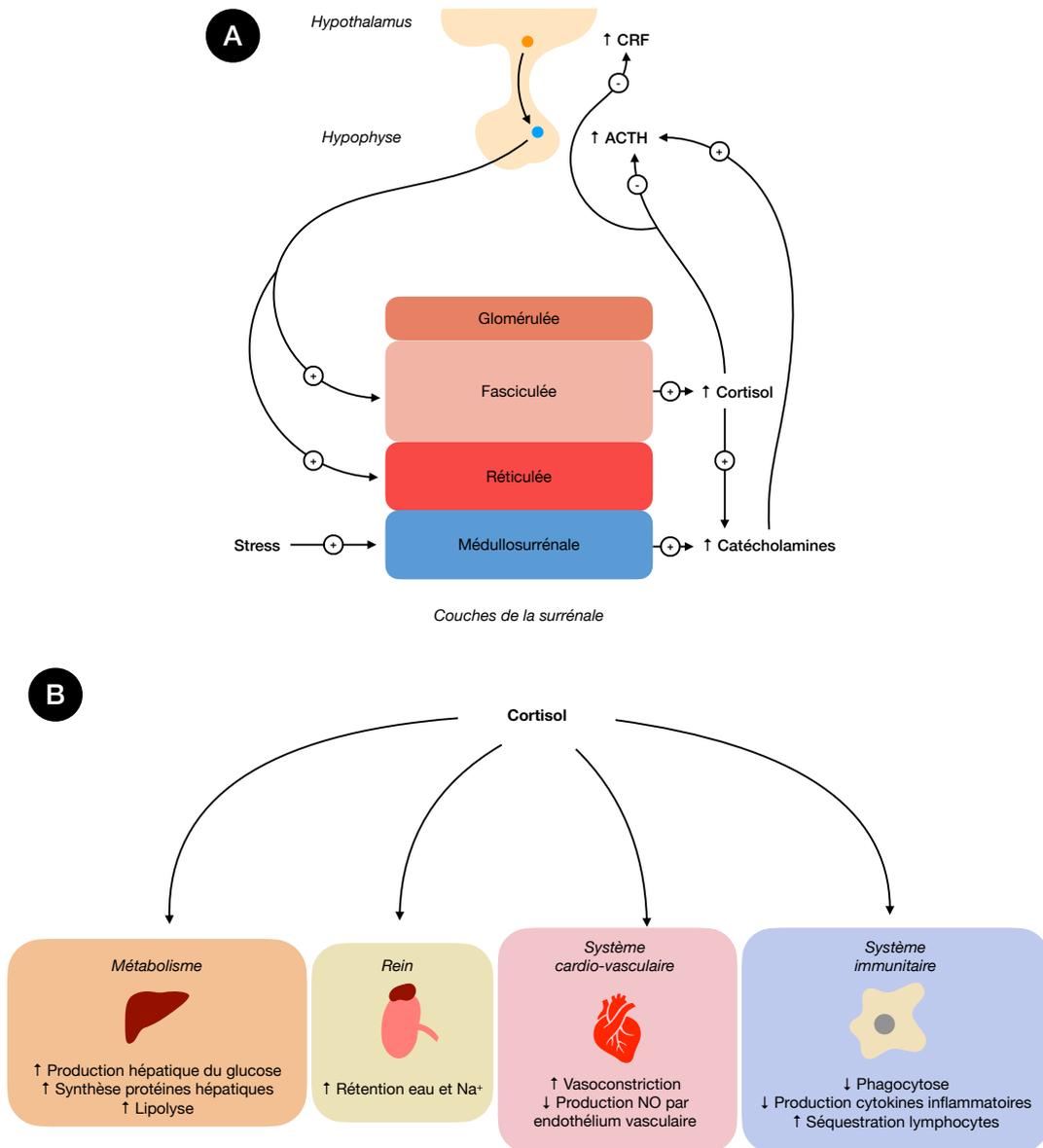


FIGURE 29 – Schéma de l'axe corticotrope (A) et les effets du cortisol (B). Le synthèse d'ACTH (hormone adrénocorticotrope) est stimulée par la production de CRF ("corticotropin-releasing hormone"). L'ACTH va permettre la synthèse de cortisol par la zone fasciculée de la corticosurréale et d'aldostérone en faible quantité par la zone glomérulée de la corticosurréale. Le stress peut impacter cet axe en inhibant le rétrocontrôle du cortisol sur la stimulation de la synthèse d'ACTH.

tonus inhibiteur permanent sur la prolactine. Cette dernière est l'hormone de la lactation; elle va favoriser la montée de lait et va permettre la production d'estradiol au niveau gonadique (l'ensemble de ce système hormonal est détaillé plus loin dans le Chapitre 4) (Norman & Henry, 2015).

Le système nerveux central, bien qu'isolé du reste du corps par de nombreuses barrières, peut communiquer avec celui-ci grâce aux hormones. Celles-ci vont avoir un impact physiologique, comme vu précédemment, mais également sur notre comportement (sensation de faim, modulation de l'humeur, modulation du comportement reproducteur, ...). Les PE, dont le rôle serait de perturber cet équilibre, pourraient-ils entraîner des modifications comportementales ?

3.5 Troubles du comportement et PE

3.5.1 Hyperactivité

L'hyperactivité est un trouble du comportement défini par l'excès de mouvements impulsifs, brusques et sans repos associés à des cris ou un fort débit de parole (Green & Grob, 2003; Sontag *et al.*, 2010; Schweitzer *et al.*, 2012; Thapar & Cooper, 2016; Lefler & Hartung, 2017). Ces symptômes sont particulièrement gênants pour la sociabilisation du patient et l'entourage. Ce trouble est souvent associé de l'enfance à l'adolescence à des troubles de l'attention et à de l'impulsivité à l'âge adulte. Ce trouble du comportement toucherait 1,4 à 3 % des enfants avec une prévalence chez les garçons plus importantes que chez les filles (Thapar & Cooper, 2016).

Il existe plusieurs pistes scientifiques capable d'expliquer ce trouble : des modifications structurelles du cerveau, des atteintes du bon fonctionnement des neurotransmetteurs et des atteintes génétiques. Au niveau structurel, il a été rapporté une diminution du volume du cortex pré-frontal droit, une diminution du volume de certains ganglions de la base (le noyau caudé gauche et le pallidum) et une diminution du volume du cervelet. Au niveau des neurotransmetteurs, une altération du système dopaminergique au niveau mésolimbique, responsable de la motivation

par la récompense, semblerait expliquer l'hyperactivité. Un déficit en récepteurs dopaminergiques (D_2 et D_3) au niveau synaptique, ainsi qu'en transporteur de dopamine, entraînerait une diminution du sentiment de satisfaction et augmenterait de ce fait les comportements "à risque" afin de stimuler suffisamment le système de récompense (Schweitzer *et al.*, 2012). Une modification des systèmes intégrant l'acétylcholine et la noradrénaline a également été décrite.

Au niveau génétique, une prévalence de 10 à 32 % a été retrouvée pour les enfants de mêmes parents. De plus, si un des parents souffre d'hyperactivité, la probabilité que ses enfants soient également atteints est de 57 % (Sontag *et al.*, 2010).

La question de l'impact de l'environnement parental, dû aux facteurs sociaux, alimentaires et d'expositions aux xénobiotiques, semble être également à prendre en compte. Philippat *et al.* (2017) ont notamment retrouvé une hyperactivité à 5 ans associée à l'exposition au BPA (Tableau 7). Cet impact n'a cependant pas été retrouvé pour le TCS chez les enfants âgés de 3 ans (Etzel *et al.*, 2018) ni pour le MP à 3 et 5 ans (Philippat *et al.*, 2017) (Tableaux 8 et 9).

Lors d'études animales sur rongeurs (Tableaux 13 et 14), une hyperactivité motrice concentration dépendante a été observée chez des rats Wistar exposés par injection à 0,2, 2 et 20 μg de BPA, mais pas à 0,02 μg (Ishido *et al.*, 2004). Cependant, lors d'une exposition à 0,1 mg/kg/j de BPA *in utero* et post-natale, aucune modification de la locomotion n'a été observée chez les rats (Negishi *et al.*, 2004). A l'inverse, une hypoactivité motrice a été observée chez des souris exposées à 4000 mg/kg/j de TCS à l'âge adulte (Tabari *et al.*, 2019). Ces résultats n'ont pas été retrouvés pour des doses inférieures (Hao *et al.*, 2022a et 2022b) ni pour une exposition *in utero* et post-natale à des doses de 10 et 100 mg/kg/j (Tran *et al.*, 2020). Concernant le MP, aucune étude, à notre connaissance, ne rapporte un impact de ce PE sur l'apparition d'une hyperactivité chez le rongeur.

3.5.2 Anxiété pathologique

L'anxiété est une réaction physiologique face à une situation de stress (Tyrer & Baldwin, 2006; Bandelow *et al.*, 2016 et 2017). Cependant, si elle devient chronique, l'anxiété peut devenir pathologique. Elle se distingue par une exagération des réactions émotionnelles et somatiques de peur et/ou d'appréhension sans motif réel. Les

symptômes sont une augmentation des comportements nerveux se manifestant par de l'impatience et de l'énerverment, des plaintes verbales importantes. Les patients peuvent également présenter des comportements obsessionnels et compulsifs, des phobies anxieuses (peur d'une situation, d'un objet), des crises de paniques (avec une symptomatologie de troubles du sommeil, troubles gastro-intestinaux, de sudations et de tachycardie) pouvant tendre au développement de "troubles de paniques" (crise de panique à répétition). Ces réactions démesurées affectent la vie du patient aussi bien en société qu'avec son entourage. Le patient se retrouve donc dans une déréalisation, c'est à dire une impossibilité à réaliser les tâches du quotidien (Tyrer & Baldwin, 2006; Bandelow *et al.*, 2016 et 2017).

L'anxiété pathologique peut apparaître après un stress post-traumatique et ce plusieurs mois après (Bandelow *et al.*, 2016 et 2017). Ce trouble du comportement est retrouvé 2 fois plus souvent chez les femmes que chez les hommes et a une étiologie non définie mais dont les aspects socio-environnementaux sont prédominants. Des études ont également montré des modifications structurelles du cerveau chez les patients atteints d'anxiété pathologique tel que des diminutions du volume des lobes temporaux et frontaux, une diminution du volume de l'amygdale ou une perte de substance grise au niveau du gyrus parahippocampique (Bandelow *et al.*, 2016). Une dérégulation des voies sérotoninergiques pourrait également être à l'origine de ce trouble. En effet, cette voie permet la stimulation du "système punitif". Au niveau hormonal, une augmentation de la sécrétion de cortisol lors de crise de panique a été observé ainsi qu'une perte de réponse de l'amygdale à la synthèse d'ocytocine, hormone permettant une sensation de "bien-être". De plus, un impact multigénique pourrait être une piste d'explication dont les conséquences seraient liées à l'environnement du patient selon Bandelow *et al.* (2016).

Au niveau épidémiologique, l'impact des PE sur l'apparition d'un comportement anxieux n'a, à notre connaissance, pas été étudié. Seul Etzel *et al.* (2018) semble ne pas voir de lien entre l'exposition maternelle au TCS et l'apparition d'anxiété chez l'enfant âgé de 3 ans (Tableaux 7, 8 et 9). Cependant, les tests sur rongeurs ont montré un impact de certains PE sur l'anxiété (Tableaux 13 et 14). Une augmentation de celle-ci a été retrouvée après exposition à 200 µg/kg/j de BPA *in utero* et post-natale chez des souris (Ryan *et al.*, 2006). Ce résultat n'a pas été retrouvé pour

le même type d'exposition à des doses plus faibles (Neigishi *et al.*, 2004; Fujimoto *et al.*, 2006) et certains auteurs ont également retrouvé une diminution de l'anxiété après exposition à de plus fortes doses de BPA chez les mâles et femelles exposées *in utero* à 40 µg/kg/j (Farabollini *et al.*, 1999) et uniquement chez les femelles exposées *in utero* à 500 µg/kg/j (Jones & Watson, 2012). À l'inverse, lors d'exposition de rongeurs à de fortes doses de TCS, une augmentation de l'anxiété de rongeurs mâles a été observée après exposition *in utero* (Tran *et al.*, 2020) ou à l'âge adulte (Tabari *et al.*, 2019) (100 mg/kg/j et 1000, 2000, 4000 mg/kg/j respectivement). C'est à ces dernières doses que Tabari *et al.* (2019) observent également des atteintes concentrations dépendantes de la structure de l'hippocampe et du cervelet notamment. Concernant le MP, aucune étude, à notre connaissance, ne rapporte un impact de ce PE sur l'apparition d'un trouble anxieux chez le rongeur.

3.5.3 Dépression

La dépression est un trouble de l'humeur et plus spécifiquement un déséquilibre du spectre thymique (Jorge, 2015; Quevedo *et al.*, 2019; Schramm *et al.*, 2020). Un individu trouvera un équilibre dans ce spectre entre la manie, qui est une exaltation de l'humeur, et la dépression de l'humeur. La dépression est donc une exagération de l'humeur (du côté maniaque et/ou dépressif) qui entraînera un sentiment de dépréciation, d'abandon et de culpabilité pouvant pousser le patient au suicide.

Plusieurs hypothèses existent quant à l'apparition de ce trouble du comportement. Une composante socio-environnemental forte existe. De plus, chez les patients atteints de dépression, une diminution du volume de matière grise dans la partie gauche du cortex préfrontal est observée, mais sans connaissance quant à savoir si cette diminution est apparue des suites ou non de la dépression. Au niveau des neurotransmetteurs, un déficit des transmissions noradrénergiques et sérotoninergiques sur leurs voies respectives peut expliquer cette symptomatologie (Figure 30).

Certains polluants ont entraîné des symptômes de la dépression en agissant sur une autre voie : les voies cholinergiques. C'est le cas des organophosphorés, molécules utilisées dans les gaz de combat et en tant que pesticides. Ils entraînent une inhibition de l'acétylcholinestérase, enzyme capable de dégrader l'acétylcholine, et

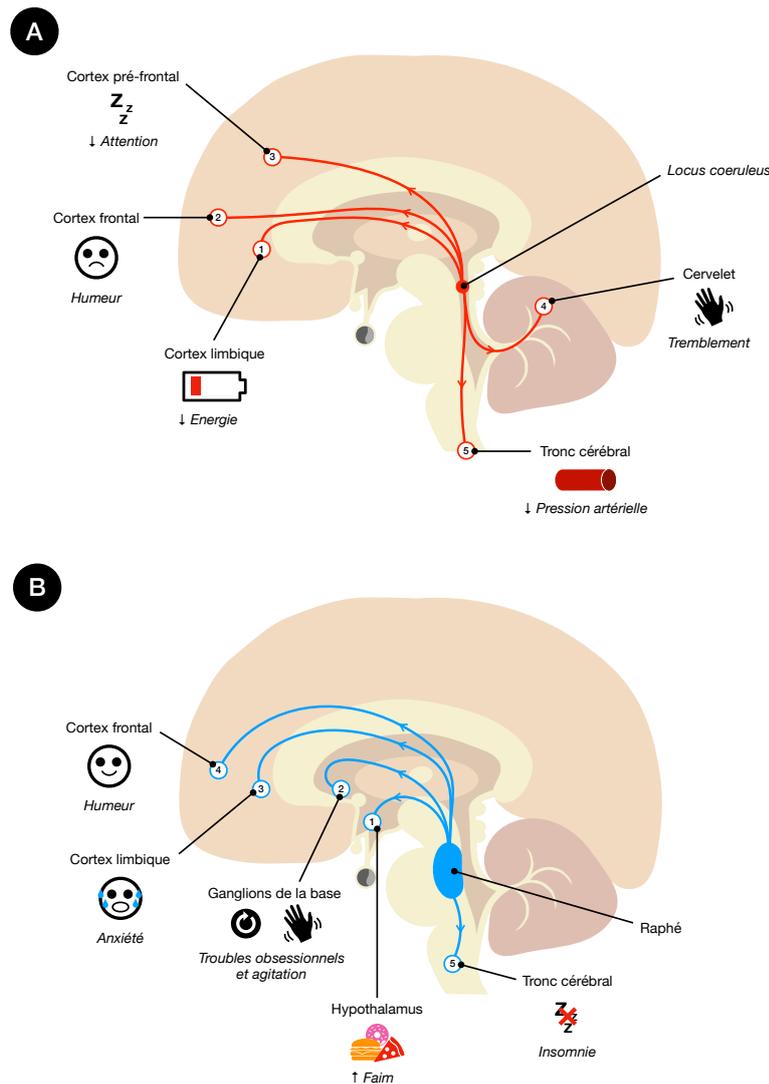


FIGURE 30 – Conséquences d’une atteinte des voies noradrénergiques (A) et sérotoninergiques (B) sur l’apparition des troubles de l’humeur. Le déficit en noradrénaline serait responsable des symptômes biologiques de la dépression tandis que le déficit en sérotonine serait responsable des symptômes émotionnels.

donc un syndrome hypercholinergique. Les symptômes retrouvés sont une bradycardie, une bronchoconstriction, une extrême salivation, des troubles de la vision, des fibrillations musculaires, un syndrome épileptique mais également une agitation, des troubles de la mémoire et des troubles de l’humeur (Levin & Rodnitzky, 1976). L’humeur est également régulée par les hormones thyroïdiennes (Norman & Henry, 2015). En effet une hyperthyroïdie, c’est à dire une augmentation de la production d’hormones thyroïdiennes, pourra entraîner une augmentation de l’irritabilité et de l’excitabilité, tandis qu’une hypothyroïdie entraînera une somnolence. Des changements brusques d’humeur peuvent donc être liés à une mauvaise régulation de l’axe thyroïdien.

Au niveau épidémiologique, des troubles de l'humeur des garçons ont été retrouvés à 3 et 5 ans en lien avec l'exposition au BPA, et à 3 ans uniquement pour le TCS (Philippat *et al.*, 2017). Cet impact n'a pas été retrouvé pour le TCS chez les enfants âgés de 3 ans (Etzel *et al.*, 2018) ni pour le MP à 3 et 5 ans (Philippat *et al.*, 2017) (Tableaux 7, 8 et 9). Au niveau des études *in vivo*, l'impact du BPA sur la dépression a été retrouvé chez des rats mâles après exposition *in utero* à 15 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{j}$ (Fujimoto *et al.*, 2006). Cet impact n'a pas été retrouvé chez les mâles et femelles pour des expositions *in utero* et post-natales de 5, 50, 500 et 5000 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{j}$ de BPA (Jones *et al.*, 2012) (Tableau 13). Le TCS, lui, a montré un impact sur les troubles de l'humeur après une exposition post-natale de souriceaux mâles et femelles à 50 à 100 $\text{mg}/\text{kg}/\text{j}$ associée à des modifications de la structure de l'hippocampe (Hao *et al.*, 2022b) (Tableau 14). Cet impact n'a pas été retrouvé lors d'exposition *in utero* et post-natale de souriceaux mâles à des concentrations de 10 et 100 $\text{mg}/\text{kg}/\text{j}$ de TCS (Tran *et al.*, 2020). Concernant le MP, aucune étude, à notre connaissance, ne rapporte un impact de ce PE sur l'apparition d'un trouble de l'humeur chez le rongeur.

Au vu de la bibliographie, il est complexe de définir l'impact exact des PE sur le cerveau et le comportement. La majorité des études utilisent des fortes doses, ne se concentrent que sur un PE spécifiquement et ne regarde que l'impact direct ou indirect sur de petites fenêtres (*in utero*, péri-natale, ...). Pourtant, des liens entre PE et troubles du comportement ont été rapportées dans la cohorte EDEN (Philippat *et al.*, 2017) sur laquelle s'appuie notre étude. S'il existe un lien entre les troubles du comportement et l'exposition environnementale aux PE, et si celui-ci peut persister sur plusieurs générations, une étude chez l'animal, analysant l'impact d'un cocktail de PE sur le cerveau et à des doses réalistes sur plusieurs générations, est donc nécessaire. De plus, si de tels impacts sur le cerveau sont observés, il est également important d'explorer un axe fortement dépendant du système neuroendocrinien et du comportement : le système reproducteur.

Espèce étudiée	Sexe	Concentration	Age d'exposition	Effets observés	Concentrations effectives	Références
Rats (Sprague-Dawley)	♂	40 µg BPA/kg/j	23-30j	Aucune modification du comportement social	-	Della Seta et al., 2006
Rats (Sprague-Dawley)	♂ et ♀	40, 400 µg BPA/kg/j	10j pré-gest-21j <i>iu</i>	↓ anxiété	40 µg de BPA/kg/j	Farabollini et al., 1999
Rats (Wistar)	♂	15 µg BPA/kg/j	13-21j <i>iu</i>	Pas d'impact sur l'anxiété ↑ dépression	15 µg de BPA/kg/j	Fujimoto et al., 2006
Rats (Wistar)	♂	0,02, 0,2, 2, 20 µg BPA/ind/inj	5j	Hyperactivité	0,2, 2, 20 µg de BPA/ind/inj	Ishido et al., 2004
Rats (Long-Evans)	♂ et ♀	5, 50, 500, 5000 µg BPA/kg/j	7j <i>iu</i> -14j PN	Pas d'impact sur la mémoire Pas d'impact sur la dépression ↓ anxiété (♀ uniquement)	- 500 µg BPA/kg/j	Jones et al., 2012
Souris (ICR)	♂	5, 10 µg BPA/kg/j	7j pré-gest-4sem PN	↓ poids du cerveau	5 µg BPA/kg/j	Kabuto et al., 2004
Rats (F344/N)	♂	0,1 mg BPA/kg/j	3j <i>iu</i> -20j PN	Pas d'impact sur l'activité motrice Pas d'impact sur la mémoire Pas d'impact sur l'anxiété ↓ capacité apprentissage	- 0,1 mg BPA/kg/j	Negishi et al., 2004
Souris (C57/Bl-6)	♀	2, 200 µg BPA/kg/j	3j <i>iu</i> -21j PN	Pas d'impact sur la mémoire ↑ anxiété	- 200 µg BPA/kg/j	Ryan et al., 2006

TABLEAU 13 – Impacts du bisphénol A (BPA) sur le comportement et le cerveau du rongeur: gest, gestation ; *iu*, *in utero* ; PN, post-natal.

Espèce étudiée	Sexe	Concentration	Age d'exposition	Effets observés	Concentrations effectives	Références
Souris	♂ et ♀	50, 100 mg/kg/j	8-14sem	Pas d'impact sur l'activité motrice Pas d'impact sur l'apprentissage	-	Hao et al., 2022a
Souris (ICR)	♂ et ♀	50, 100 mg/kg/j	1-21j	Pas d'impact sur l'activité motrice ↑ dépression	50, 100 mg/kg/j	Hao et al., 2022b
Souris (NMRJ)	♂	1000, 2000, 4000 mg/kg/j	10-12sem	Hypoactivité ↓ quantité neurone dans le cortex ↓ quantité neurone dans l'hippocampe ↑ anxiété Mauvaise coordination	4000 mg/kg/j 2000, 4000 mg/kg/j 1000, 2000, 4000 mg/kg/j	Tabbari et al., 2019
Souris (C57BL/6j)	♂	10, 100 mg/kg/j	9j <i>in-28j</i> PN	Pas d'impact sur l'activité motrice Pas d'impact sur l'humeur ↓ mémoire ↑ anxiété	- 10, 100 mg/kg/j 100 mg/kg/j	Tran et al., 2020

TABLEAU 14 – Impacts du triclosan sur le comportement et le cerveau du rongeur: *in, in utero*; PN, post-natal.

Chapitre 4

Systèmes reproducteurs

4.1 Reproduction masculine

4.1.1 Généralités

Le testicule, organe de la reproduction masculine, est situé en dehors du corps afin de pouvoir être à une température permettant la spermatogenèse (Norman & Henry, 2015; Maeda *et al.*, 2000). Cette descente du testicule dans le scrotum est entamée avant le 8^{ème} mois de développement chez l'Homme et entre le 30 et 40^{ème} jours post-natale chez le rat (Hofstetter *et al.*, 2006). Le testicule est composé de lobules testiculaires regroupant des tubes séminifères et délimités par l'albuginée (Figure 31.A). Les tubes séminifères confluent en tubes droits qui s'anastomosent au niveau du corps de Highmore en un réseau appelé rete testis. De ce rete testis vont partir les canaux efférents qui sont inclus dans l'épididyme. L'épididyme comprend 3 parties : la partie supérieure appelée tête de l'épididyme contenant les canaux; le corps de l'épididyme; la queue de l'épididyme, aussi appelée cauda. Ces canaux efférents sont collectés par un canal unique appelé canal épидидymaire. Celui-ci se jette dans le canal déférent qui, lui-même, se jette au niveau de la partie prostatique de l'urètre.

Les tubes séminifères (Figure 31.B) sont délimités par une paroi propre et, entre ces tubes, on retrouve du tissu conjonctif vascularisé avec, autour des vaisseaux, les cellules de Leydig permettant la synthèse de la testostérone. Dans les tubes séminifères est retrouvé un épithélium constitué de 2 types cellulaires : les cellules de Sertoli, qui servent de cellules de soutien, et les cellules de la lignée germinale (de la spermatogonie au spermatozoïde). Le testicule a donc 2 fonctions : une fonction

exocrine assurée par l'épithélium séminal (la spermatogenèse) et une fonction endocrine assurée par les cellules de Leydig du tissu interstitiel.

4.1.2 La cellule de Sertoli

Les cellules de Sertoli sont de grandes cellules pyramidales s'étalant de la membrane basale jusqu'à la lumière du tube séminifère (Norman & Henry, 2015). Elles sont liées entre elles par des jonctions serrées qui vont déterminer, au sein du tube séminifère, 2 compartiments (Figure 31.B) :

- Un compartiment basal qui est le compartiment périphérique où sont retrouvés, entre les cellules de Sertoli, des cellules de la lignée germinale immatures : spermatogonies et spermatocytes primaires.
- Un compartiment *ad luminal* (ou central) se trouvant derrière les jonctions serrées et vers la lumière du tube où sont retrouvées des cellules de la lignée germinale différenciée.

Ces jonctions serrées entre les différentes cellules de Sertoli ainsi que la paroi des tubes séminifères constituent la barrière hémato-testiculaire. Cette barrière va gérer les échanges entre le sang et les cellules de la lignée germinale, elle contrôle donc le passage des substances dans le tube séminifère ce qui permet le maintien d'un milieu favorable à la formation des spermatozoïdes et une protection vis à vis des xénobiotiques. Cette barrière empêche aussi qu'il y ait un contact direct entre les cellules de l'immunité sanguine et les cellules de la lignée germinale devenues antigéniques. Au-delà des jonctions serrées, tous les nutriments atteignant les cellules de la lignée germinale doivent transiter par le cytoplasme de la cellule de Sertoli. Les cellules de Sertoli contrôlent la maturation et la migration des cellules germinales pendant la spermatogenèse et transportent les déchets métaboliques vers le sang. Elles jouent également un rôle endocrinien par la sécrétion d'inhibine, qui se fixera sur les cellules de l'hypophyse afin d'inhiber la production de FSH; la sécrétion de l'hormone antimüllérienne (AMH) qui, lors de la vie fœtale, permettra la différenciation sexuelle; et l'ABP (pour "*androgen-binding protein*") qui est une protéine de transport des androgènes et dont la production est stimulée par la FSH (Norman & Henry, 2015).

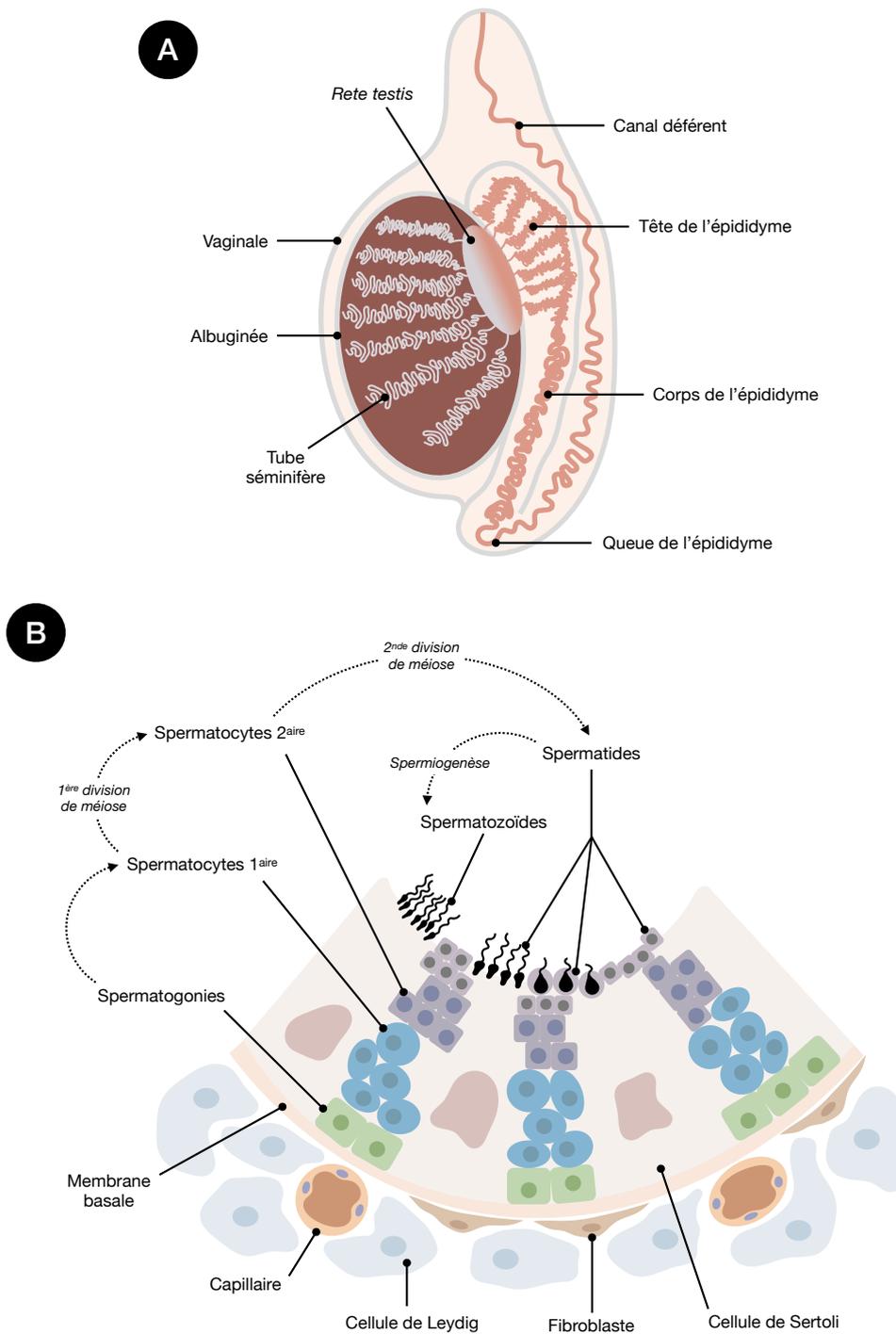


FIGURE 31 – Coupe frontale d'un testicule (A) et coupe d'un tube séminifère entouré de tissu interstitiel (B). Les cellules de Leydig au niveau du tissu interstitiel permettent la synthèse de testostérone tandis que les cellules de Sertoli dans les tubes séminifères vont servir de soutien à la spermatogenèse. Elles vont également jouer un rôle endocrinien (adapté de Norman & Henry, 2015).

4.1.3 La spermatogenèse

La spermatogenèse est le processus de différenciation cellulaire qui, à partir des cellules souches (diploïdes), aboutit à la production des spermatozoïdes (haploïdes) qui sont des cellules extrêmement différenciées (Norman & Henry, 2015). Les différents stades de la spermatogenèse vont être retrouvés depuis la paroi des tubes séminifères jusqu'au centre des tubes (c'est à dire vers la lumière). Cette spermatogenèse n'est complète qu'à partir de la puberté et dure jusqu'au décès de l'individu. Il existe un infléchissement de la spermatogenèse avec l'âge mais il n'est pas précisément déterminé. A la fin de la spermatogenèse les liens qui unissaient les cellules de Sertoli aux cellules de la lignée germinale sont rompus et les spermatozoïdes vont alors être libérés dans la lumière des tubes séminifères : c'est la spermiation. Les spermatozoïdes libérés dans la lumière des tubes séminifères ne sont absolument pas compétents, ils vont devoir franchir les autres structures de l'appareil génital masculin pour devenir fécondant. Lors de la spermiation, les spermatozoïdes vont être collectés par les tubes droits, vont traverser le rete testis. Ils vont ensuite passer dans les canaux efférents pour rejoindre l'épididyme. A la sortie du testicule le spermatozoïde se retrouve dans les voies génitales et est immature, la traversée de l'épididyme permet au spermatozoïde d'acquérir son pouvoir fécondant. Cette maturation épидидymaire se fait sous la dépendance de la testostérone. Les spermatozoïdes vont être stockés entre 2 éjaculations au niveau de la queue de l'épididyme (aussi appelée cauda) et au niveau de l'anse épидидymio-déférentielle.

4.1.4 Contrôle endocrinien de la spermatogenèse

La GnRH sécrétée par l'hypothalamus entraîne la sécrétion de LH et FSH par l'hypophyse (Norman & Henry, 2015). La LH va induire la production de testostérone par les cellules de Leydig du tissu interstitiel des tubes séminifères, tandis que la FSH entraînera la sécrétion de l'ABP qui permettra le transport de la testostérone dans le tube séminifère et donc le bon déroulement de la spermatogenèse. La testostérone sera également utile pour la maturation du spermatozoïde dans l'épididyme.

Un double rétrocontrôle par action de la testostérone sur l'hypothalamus et l'hypophyse entraînera une diminution de la production de GnRH, LH et FSH. Les cellules de Sertoli vont également synthétiser de l'inhibine qui, après son action sur l'hypophyse, entraînera une diminution de la production de FSH (Figure 32) (Norman & Henry, 2015).

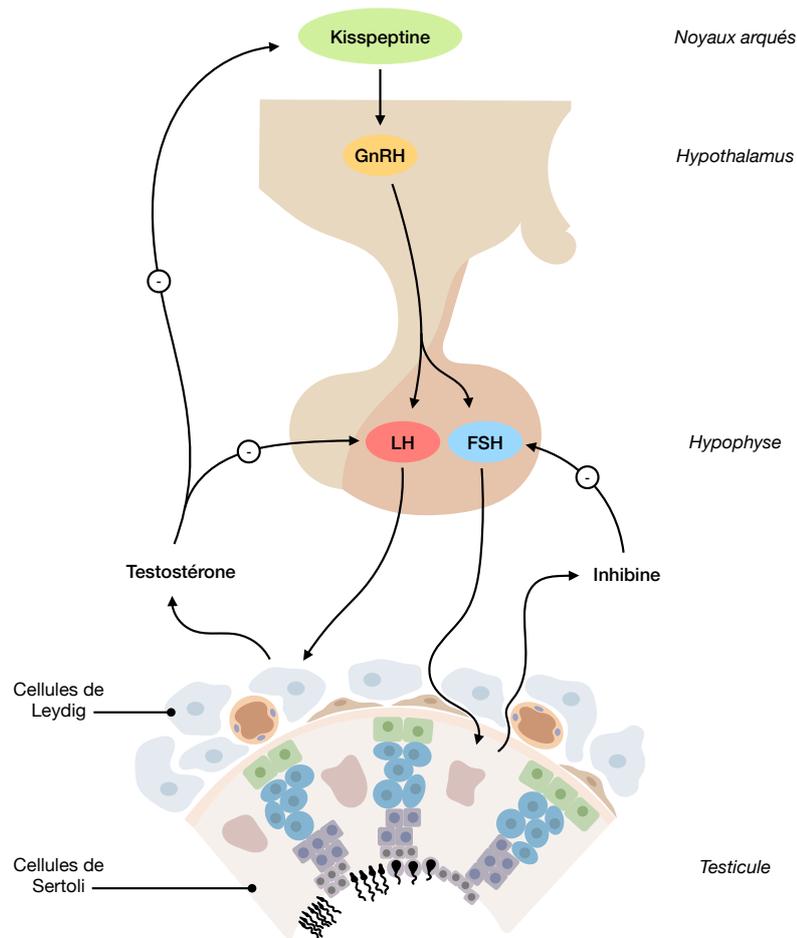


FIGURE 32 – Axe gonadotrope masculin; les kisspeptines sont synthétisées par le noyau arqué de l'hypothalamus et entraînent la synthèse de GnRH ("gonadotropin releasing hormone"). Celle-ci va induire à son tour la synthèse de LH ("Leitniz hormone") et FSH "follicle stimulating hormone") dans la partie antérieure de l'hypophyse. La LH aura un effet sur les cellules de Leydig permettant la synthèse de testostérone nécessaire à la maturation des spermatozoïdes dans l'épididyme. La FSH induira la synthèse de l'ABP ("androgen-binding protein") par les cellules de Sertoli, permettant le transport de la testostérone dans la cellule de Sertoli afin de permettre la spermatogenèse. Les cellules de Sertoli synthétisent également de l'inhibine permettant un rétrocontrôle de la synthèse de FSH. La testostérone synthétisée par les cellules de Leydig aura également un pouvoir de rétrocontrôle sur la synthèse de LH et des kisspeptines (adapté de Norman & Henry, 2015).

4.2 Reproduction féminine

4.2.1 L'ovaire

Les ovaires sont au nombre de 2 et sont le lieu de l'ovogenèse (Norman & Henry, 2015). Ils sont reliés à l'utérus, lieu où l'ovocyte fécondé fera sa nidification, par les trompes utérines. On observe 2 parties dans l'ovaire (Figure 33) : une partie centrale, appelée région médullaire, et une partie périphérique, appelée région corticale, où on retrouve des formations ovoïdes de tailles variées qui correspondent à des follicules ovariens. Les follicules ovariens comportent un ovocyte bloqué depuis la vie embryonnaire en prophase de première division méiotique. Cet ovocyte bloqué est entouré de cellules folliculeuses, qui se multiplient et se différencient au cours de l'évolution du follicule.

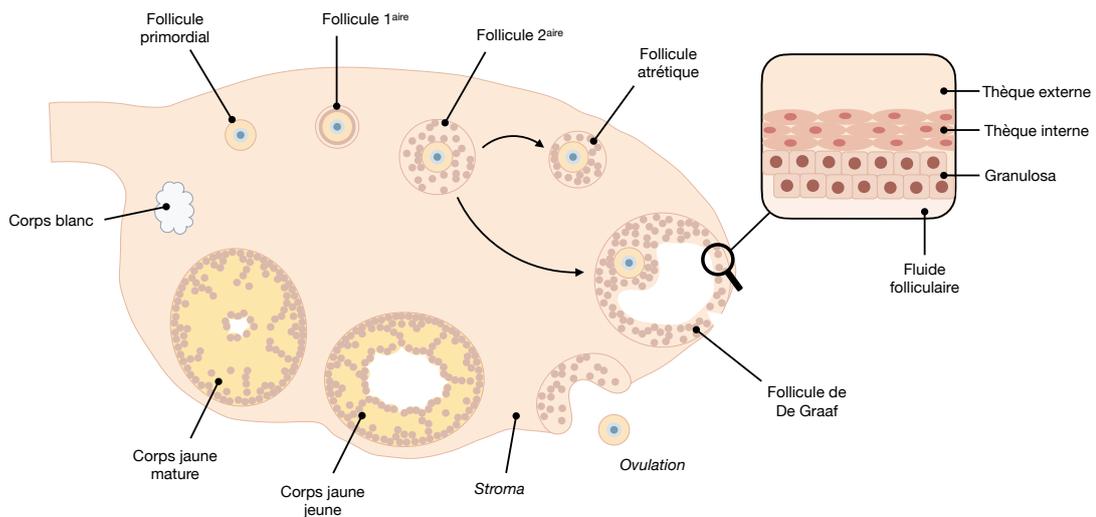


FIGURE 33 – Coupe frontale d'un ovaire et illustration de l'ovogenèse. Plusieurs follicules se développent jusqu'au stade 2ndaire. Un seul follicule sera recruté pour se développer jusqu'au stade de follicule de De Graaf. Les follicules non recrutés passeront au stade de follicule atrétique. Le follicule est composé de différentes couches de cellules, dont la thèque et la granulosa qui jouent un rôle endocrinien important. Après l'ovulation, le reste de follicule donnera le corps jaune permettant la synthèse de la progestérone, nécessaire au maintien de la grossesse. Si l'ovule n'est pas fécondé, le corps jaune s'atrophie en corps blanc (adapté de Norman & Henry, 2015).

Les follicules primordiaux vont entrer en croissance puis dans le cycle de la folliculogenèse jusqu'au stade de follicule mûr ou de De Graaf. Tout au long de la maturation du follicule, la synthèse d'estradiol se fera par une couche de cellules folliculaires appelée granulosa. Au terme de sa maturation, le follicule de De Graaf

devient sensible à la décharge ovulante de gonadotrophine (LH et FSH) et va subir diverses transformations conduisant à un ovocyte prêt à être fécondé. Ce pic de gonadotrophine va entraîner notamment des modifications de l'ovocyte qui va devenir apte à la fécondation, et une rupture du follicule en un point précis appelé stigma. Ce follicule vide se transforme ensuite en corps jaune qui sécrètera la progestérone. L'ovaire possède donc 2 fonctions : une fonction exocrine, qui est la production des ovocytes, et une fonction endocrine, qui est la production d'estradiol et de progestérone. Ces fonctions vont être exercées de manière cyclique entre la puberté et la ménopause par une même unité fonctionnelle : le follicule ovarien (Norman & Henry, 2015).

4.2.2 Cycle menstruel

Les hormones vont jouer un rôle sur de nombreux organes de la reproduction féminine et suivent un cycle d'environ 28 jours appelé cycle menstruel (Norman & Henry, 2015) (Figure 34). Ces cycles s'arrêtent à la ménopause, moment où tout le stock de follicules primordiaux a été entièrement utilisé. Le cycle menstruel peut être décomposé en 2 phases : une phase folliculaire, du 1^{er} au 14^{ème} jour, et une phase lutéale, du 14^{ème} au 28^{ème} jour.

Lors de la première semaine de la phase folliculaire une grande quantité de FSH est synthétisée par l'hypophyse, sous l'influence de la GnRH synthétisée par l'hypothalamus (Figure 35.A) (Norman & Henry, 2015). Cette grande quantité de FSH permet le recrutement d'un follicule secondaire afin qu'il entame sa maturation pour devenir un follicule de De Graaf. La granulosa prolifère, l'expression des récepteurs à la LH par les cellules de la thèque est stimulée et la synthèse d'estradiol et d'inhibine commence. L'inhibine va entraîner un rétrocontrôle sur la production de FSH par l'hypophyse. L'estradiol, lui, entraîne une stimulation de la sécrétion de GnRH par l'hypothalamus et de la LH par l'hypophyse. La LH synthétisée va entraîner la production d'androsténédione par les cellules de la thèque. Cette androsténédione est une pro-hormone nécessaire à la synthèse d'estradiol (Figure 35.B). La synthèse d'estradiol est donc dépendant de la fixation de la FSH à la granulosa et de la fixation de la LH aux cellules de la thèque.

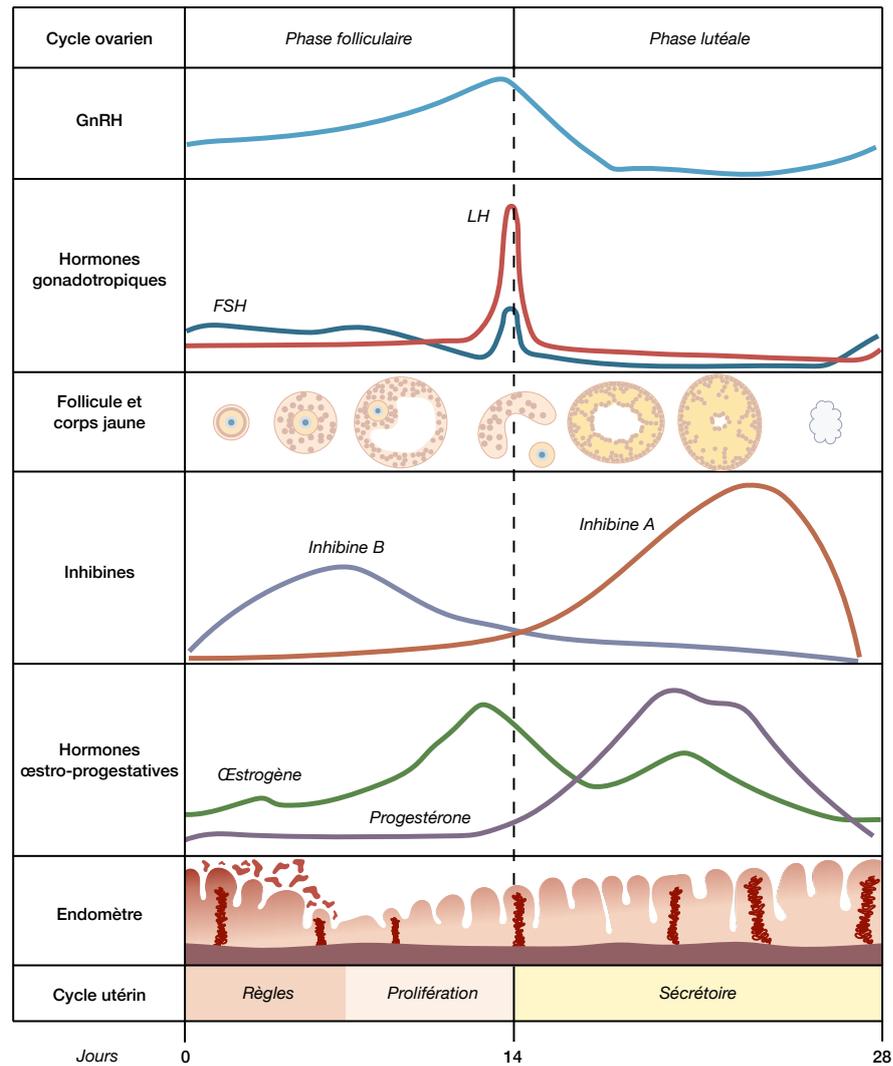


FIGURE 34 – Schéma du cycle menstruel; il peut être décomposé en 2 phases : une phase folliculaire, du 1^{er} au 14^{ème} jour, et une phase lutéale, du 14^{ème} au 28^{ème} jour. Le pic d'œstradiol est atteint au 14^{ème} jour entraînant un pic de LH ("Leitniz hormone") et FSH "follicle stimulating hormone" permettant l'ovulation. Pendant la phase lutéale, la progestérone stoppe la prolifération de l'endomètre, stimuler la vascularisation de cet endomètre. Si l'ovule n'est pas fécondé, le corps jaune s'atrophie et la chute de progestérone va entraîner une desquamation de l'endomètre (adapté de Norman & Henry, 2015).

La quantité croissante en œstradiol permet une prolifération de la muqueuse utérine, appelé endomètre, qui permettra la nidification de l'embryon (Norman & Henry, 2015). La quantité d'œstradiol continue de croître et permet également au col de l'utérus de synthétiser un mucus cervical à maille large et ayant un pH optimal au passage des spermatozoïdes dans l'utérus. Le pic d'œstradiol est atteint au 14^{ème} jour entraînant un pic de LH et FSH permettant l'ovulation. Ce pic de LH et FSH va permettre la transformation du follicule vide en corps jaune par la prolifération des cellules lutéales. Ces cellules vont synthétiser de la progestérone qui entraînera une inhibition de la production de LH et FSH. Le corps jaune s'atrophie si la fécondation

de l'ovule n'a pas eu lieu. En effet, l'ovule fécondé et nidifié va sécréter une CG (pour "*chorionic gonadotropin*"), une hormone structurellement proche de la LH permettant le maintien du corps jaune. La progestérone va stopper la prolifération de l'endomètre, stimuler la vascularisation de cet endomètre et maintenir la gestation s'il y a nidification de l'embryon. Si l'ovule n'est pas fécondé, le corps jaune s'atrophie et la chute de progestérone va entraîner une desquamation de l'endomètre.

4.2.3 Particularités chez le rongeur

Chez le rongeur, et plus particulièrement le rat, le cycle menstruel dure 4 à 5 jours (Maeda *et al.*, 2000). Il est découpé en 4 phases : le proœstrus, l'œstrus (moment de l'ovulation), le metœstrus et le dicestrus. La progestérone synthétisée par le corps jaune n'est pas fonctionnelle sauf en cas de conservation du stimulus copulatoire. En effet, ce stimulus permet la sécrétion de prolactine par l'hypophyse. En absence de prolactine, le corps jaune produit un métabolite de la progestérone, la 20α -hydroxyprogestérone, qui est inactif. La prolactine va donc inactiver la métabolisation de la progestérone et potentialiser la sécrétion de LH par l'hypophyse ce qui permet le maintien de la grossesse. Sans stimulus copulatoire chez le rat, une pseudo-grossesse de 10 jours aura lieu (Freeman *et al.*, 2000 ; Maeda *et al.*, 2000).

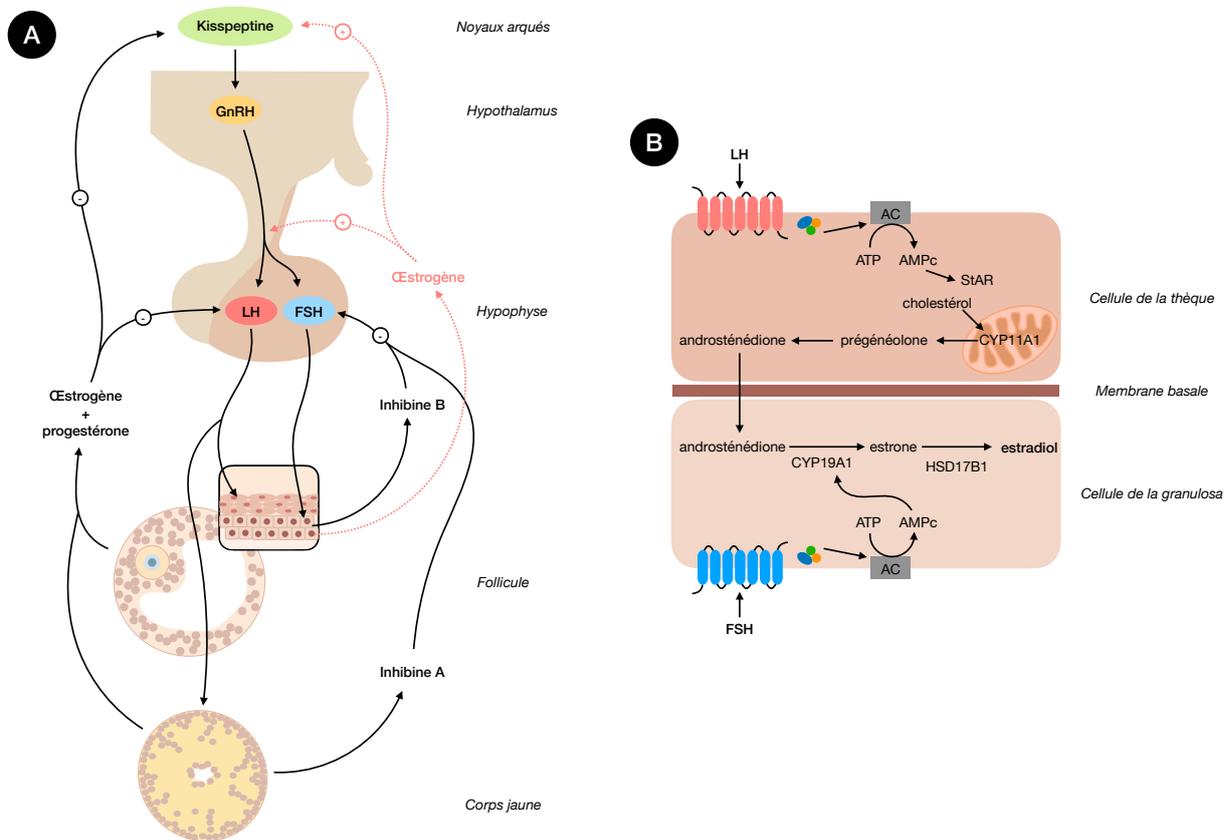


FIGURE 35 – Axe gonadotrope féminin (A); les kisspeptines sont synthétisées par le noyau arqué de l'hypothalamus et entraînent la synthèse de GnRH ("gonadotropin releasing hormone"). Celle-ci va induire à son tour la synthèse de LH ("Leitniz hormone") et FSH ("follicle stimulating hormone") par la partie antérieure de l'hypophyse. Celles-ci pourront dans un premier temps agir sur la maturation du follicule (B) : la LH agit sur les cellules de la thèque, permettant la synthèse d'androsténédione. La FSH agit sur les cellules de la granulosa, permettant la synthèse d'estradiol à partir de l'androsténédione. Les cellules de la granulosa synthétiseront également, sous l'influence de la FSH, de l'inhibine B afin d'inhiber la production de FSH. Les œstrogènes synthétisés par le follicule pourront également inhiber la production de kisspeptines et de LH. Au moment de l'ovulation, les œstrogènes synthétisés en grande quantité par les cellules de la granulosa permettent de stimuler la production de kisspeptines, de LH et FSH. Lors de la phase lutéale, la LH permettra la production de progestérone par le corps jaune. Celui-ci synthétisera en réponse de l'inhibine A afin d'inhiber la production de FSH durant cette phase (adapté de Norman & Henry, 2015). AC, adényl-cyclase; AMPc, adénosine monophosphate cyclique; ATP, adénosine triphosphate; CYP11A1, cholestérol monooxygénase; CYP19A1, aromatasé; HSD17B1, 17 β -hydroxysteroid dehydrogenase 1; StAR, "steroid acute regulatory protein".

4.3 Les particularités de la grossesse

4.3.1 Le placenta

Le placenta (Figure 36) est un tissu de double origine : une partie, provenant du trophoblaste est embryonnaire, tandis qu'une autre partie, la decidua, est maternelle (Maeda *et al.*, 2000; Erb, 2006; Norman & Henry, 2015; Hoffman *et al.*, 2021). Le placenta permet le transit de micro et macro-nutriments, des différents gaz et le passage des déchets. Il possède également un rôle endocrinien qui va jouer un rôle dans les modifications métaboliques et cardiovasculaires maternelles afin d'assurer une bonne perfusion utéro-placentaire et le passage des nutriments nécessaires au fœtus. Le placenta joue un rôle primordial dans le maintien de la grossesse au vu de ses fonctions. Il va également prendre le relai du corps jaune dans la synthèse de progestérone. De nombreuses autres hormones sont synthétisées (Tableau 15) permettant le bon développement du fœtus.

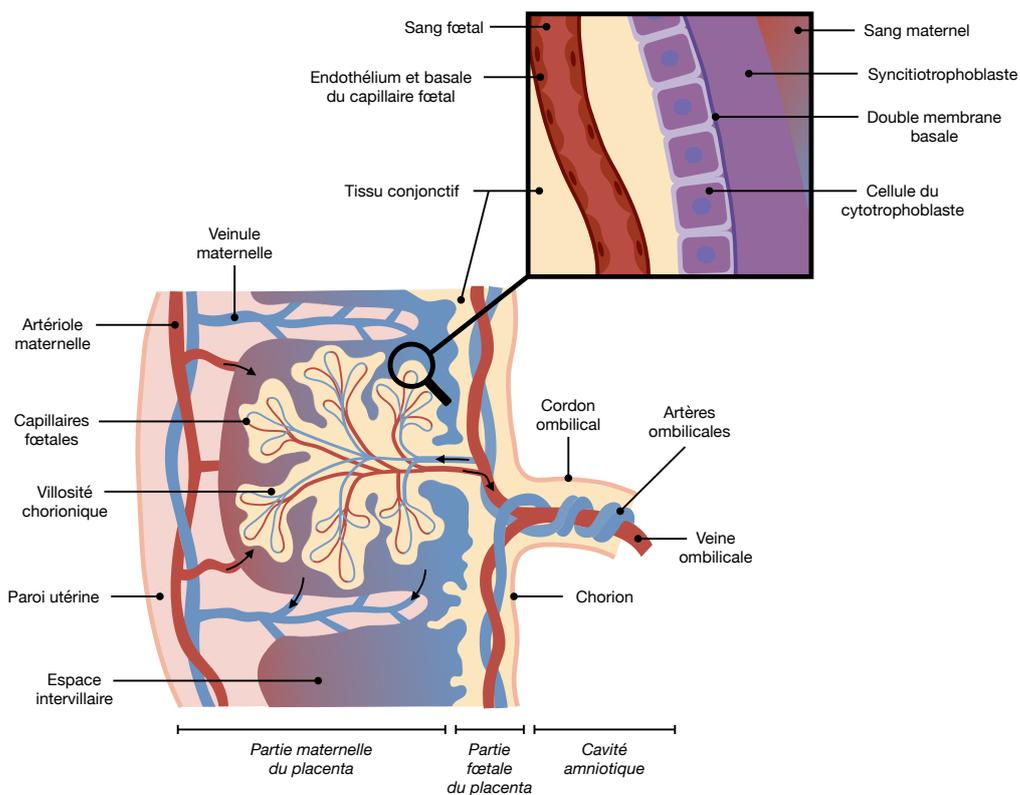


FIGURE 36 – Coupe frontale du placenta et zoom sur la barrière hémato-placentaire au niveau d'une villosité. Les cellules du cytotrophoblaste disparaîtront au 4^{ème} mois de grossesse chez l'Homme, rendant la barrière hémato-placentaire plus fine. Ce processus est absent chez le rat (adapté de Norman & Henry, 2015).

Hormones	Fonctions
CG	Hormone permettant le maintien du corps jaune le temps que le placenta puisse synthétiser sa propre progestérone.
<i>Placental lactogen</i>	Hormone responsable de l'augmentation de la lipolyse, de la glycolyse maternelle et de la prolifération des cellules β dans le pancréas maternelle; chez les rongeurs, cette hormone joue également un rôle dans la lactogénèse.
<i>Placental Growth Hormone</i>	Diminue la sensibilité maternelle à l'insuline et stimule la croissance
Leptine	Permet l'immunosuppression, diminue l'apoptose et stimule l'invasion cellulaire
Activine Inhibine	Permettent de réguler la synthèse de GnRH et de CG; la modification de leur synthèse peut être responsable d'hypertension maternelle et de naissance prématuré
Progestérone	Permet le maintien de la grossesse et la rigidité du col de l'utérus
Œstrogènes	Augmente la circulation du sang et l'angiogénèse; en fin de grossesse, lorsque la quantité d'œstrogène atteint un pic, permet la sensibilité de l'utérus aux contractions utérines et la dilatation du col de l'utérus; chez le rat, aucun œstrogène n'est synthétisé par le placenta, c'est le corps jaune qui jouera ce rôle à partir du 11 ^{ème} jour de gestation <i>via</i> la métabolisation de la progestérone par une aromatasé.

TABLEAU 15 – Exemple d'hormones synthétisées par le placenta (non exhaustif) (adapté de Maeda *et al.*, 2000 et Hoffman *et al.*, 2021). CG, hormone chorionique gonadotrope; GnRH, "gonadotropin releasing hormone".

Le placenta se développe de la 4^{ème} semaine au 4^{ème} mois de développement chez l'Homme et du 8^{ème} au 16^{ème} jour chez le rat. Les circulations maternelles et fœtales sont séparées par plusieurs couches de tissu (Figure 36). Cette barrière, en plus de jouer un rôle nourricier et endocrinien, permet de protéger en partie le fœtus de l'environnement. En effet, la barrière fœto-maternelle joue un rôle protecteur, mais celui-ci n'est pas complet. Par exemple, certains ions métalliques auront plus de mal à passer que d'autres comme le manganèse qui diffuse mal à travers le placenta (Fechter, 1999), ce qui n'est pas le cas du plomb dont la toxicité a déjà été exposée précédemment (Gidlow, 2015). Le passage de cette barrière est influencé par différents facteurs : le débit sanguin, la liaison aux protéines plasmatiques (plus les xénobiotiques seront liées, moins ils diffuseront à travers la barrière fœto-maternelle) et la présence de nombreux transporteurs d'influx ou d'efflux. De plus, chez l'Homme, l'épaisseur de la barrière fœto-maternelle diminue au cours de la grossesse augmentant alors le risque de passage des xénobiotiques.

4.3.2 L'allaitement

La glande mammaire est composée d'*acini* mammaires entourés de cellules myoépithéliales organisés en lobules, eux-mêmes organisés en lobes (Figure 37.A) (Norman & Henry, 2015). L'ensemble des lobules converge, via des canaux excréteurs intra et extra lobulaires, vers un canal galactophore. Lors des 5 premiers mois de

la gestation, la glande mammaire va se développer, c'est la mamogénèse. Les canaux excréteurs intra et extra lobulaires ainsi que les *acini* vont se multiplier sous l'effet des œstrogènes et de la progestérone respectivement. Une augmentation de la densité de capillaires vient compléter le développement de la glande mammaire. A partir du 5^{ème} mois de gestation chez l'Homme, et sur les derniers jours de gestation chez le rat (Maeda *et al.*, 2000), l'activité proliférative diminue et laisse place à une activité sécrétrice du colostrum par la glande, c'est la phase colostrogène. Le colostrum ne sera excrété que les 2 premiers jours post-partum. Enfin, la glande mammaire entre dans une phase de lactogénèse où les cellules des *acini* vont être chargées en vacuoles lipidiques. Sous l'effet de la succion du mamelon, l'hypothalamus va stimuler la synthèse de prolactine par l'hypophyse entraînant la sécrétion lactée (Figure 37.B). L'hypothalamus va également synthétiser de l'ocytocine qui, en réserve dans l'hypophyse, sera libérée dans le sang afin d'entraîner la contraction des cellules myoépithéliales autour des *acini*, et donc permettre l'excrétion du lait. De plus, cette succion mammaire va entraîner une chute du taux de GnRH synthétisée par l'hypothalamus et donc de FSH et LH par l'hypophyse, entraînant un arrêt de l'ovogénèse appelé aménorrhée de lactation. Aucune barrière ne protège le lait maternel des contaminants. Les xénobiotiques auront donc une probabilité plus importante de se retrouver dans le lait maternel s'ils ne sont pas liés à des protéines plasmatiques, sont de faible poids moléculaire et hautement lipophile. Le BPA et BPS (Snyder *et al.*, 2000; Iribarne-Durán *et al.*, 2022), le TCS (Sandborgh-Endglund *et al.*, 2006; Scientific Committee on Consumer Products, 2009; Cosmetic Ingredient Review, 2010) et le MP (Park *et al.*, 2019) sont par exemple retrouvés dans le lait maternel.

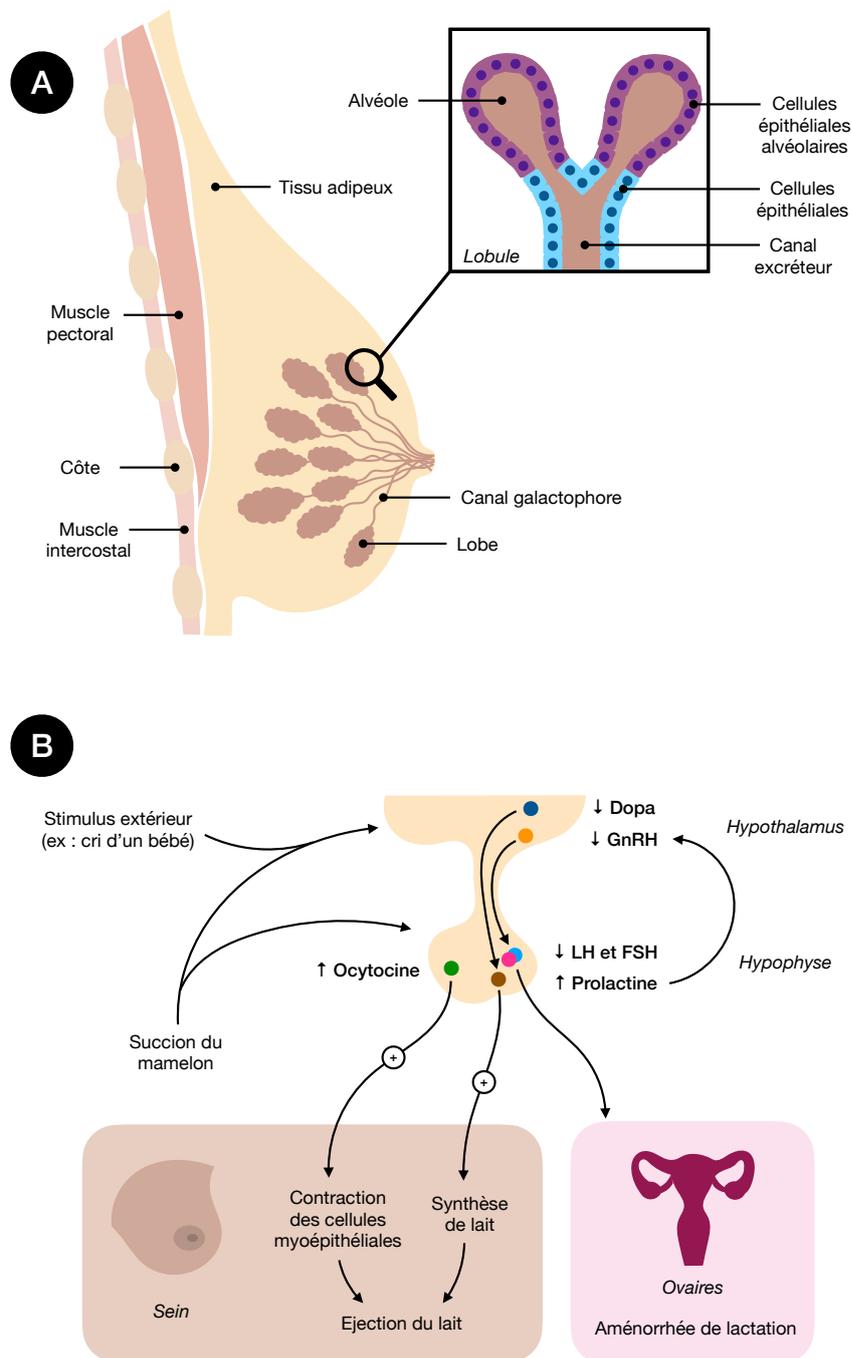


FIGURE 37 – Coupe longitudinale du sein maternel et d'un lobule (A) et régulation hormonale de la lactation (B). Les *stimuli* extérieurs entraînent une chute de la dopamine (Dopa) dans l'hypothalamus permettant la sécrétion de prolactine. Celle-ci entraîne une chute de la sécrétion de GnRH ("gonadotropin releasing hormone") par l'hypothalamus et donc de LH ("Leitniz hormone") et FSH ("follicle stimulating hormone"). Cette inhibition du système gonadotrope féminin donne lieu à une aménorrhée de lactation. Les *stimuli* extérieurs vont également permettre la production d'ocytocine par la post-hypophyse (adapté de Norman & Henry, 2015).

4.4 Infertilité

4.4.1 Physiopathologie

L'infertilité touche 15 % d'hommes et de femmes dans le monde selon l'OMS (*World Health Organization - Infertility*). Au niveau masculin (Busuttill Leaver, 2016; Krausz & Riera-Escamilla, 2018; Roldan, 2018), l'infertilité est dû à une altération des différents paramètres spermatiques :

- L'azoospermie; absence de spermatozoïdes dans l'éjaculat qui a plusieurs causes possibles dont 25 % sont d'origines génétiques :
 - L'aplasie des cellules germinales
 - Un impact sur le développement des spermatozoïdes dans la cellule de Sertoli
 - L'hypo-spermatogenèse
 - Des perturbations de la synthèse de LH et FSH
 - Une obstruction des voies de sécrétion
- L'oligospermie; diminution du nombre de spermatozoïdes dans l'éjaculat (< 39 millions par éjaculat)
- L'asthénospermie; diminution de la mobilité spermatique
- La tératospermie; déformation des spermatozoïdes

Au niveau féminin, une atteinte des organes reproducteurs peut entraîner une infertilité (Mehedintu *et al.*, 2014; Norman & Henry, 2015; Vander Borgh & Wyns, 2018) :

- La glaire cervicale peut devenir hostile.
- Au niveau utérin, il existe plusieurs causes :
 - Une anomalie de la muqueuse utérine par malformation (bicorne, hypoplasique).
 - Une endométriose; prolifération de tissu endométrial en dehors de la muqueuse utérine touchant 10 à 15 % des femmes.

- Une atteinte des ovaires est également possible avec, notamment, le syndrome des ovaires polykystiques, touchant 5 à 10 % des femmes. Les modifications endocriniennes sont dues à un arrêt de la multiplication des cellules de la granulosa. Cependant, la thèque continue de synthétiser une forte quantité d'androgène entraînant des symptômes d'hirsutisme. D'autres symptômes sont retrouvés tel qu'une aménorrhée et des troubles du métabolisme (résistance à l'insuline, dyslipidémie et obésité).

L'infertilité peut être expliquée physiologiquement par une modification génétique pour la majorité des pathologies citées ci-dessus (Busuttill Leaver, 2016; Krausz & Riera-Escamilla, 2018; Roldan, 2018; Vander Borght & Wyns, 2018). Cependant, elles peuvent être également dû à une infection, un traumatisme d'une des structures du système reproducteur ou même certains facteurs socio-environnementaux. Dans ce dernier exemple sont retrouvés le tabac, impactant la qualité de l'éjaculat et le bon déroulement de la grossesse, mais également certains pesticides comme le dibromochloropropane dont les effets reprotoxiques sont concentrations-dépendants (Babich *et al.*, 1981).

4.4.2 Fertilité, gestation et PE

Au niveau épidémiologique, peu de lien entre l'infertilité et l'expositions aux PE ont été retrouvés que ce soit pour le BPA et BPS (Philips *et al.*, 2018; Aung *et al.*, 2019), le TCS (Jurewicz *et al.*, 2018) et le MP (Adoamnei *et al.*, 2018; Aung *et al.*, 2019). Seule une augmentation du temps de gestation en lien avec l'exposition au BPS a été retrouvée par Wan *et al.* (2018) (Tableaux 7, 8 et 9).

Les impacts du BPA et du BPS sur la reproduction ont été beaucoup plus étudiés *in vivo* (Tableau 17). Chez les rongeurs mâles, le taux de testostéronémie se voit être diminué de manière significative après des expositions post-natales ou à partir de 21 jours à des doses de 2,4 à 50 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{j}$ de BPA ou BPS (Akingbemi *et al.*, 2004; Della Seta *et al.*, 2006; Shi *et al.*, 2017; Jeminiwa *et al.*, 2021; Ullah *et al.*, 2021). Cependant, les études d'expositions *in utero* ne semblent pas modifier la testostéronémie à l'âge adulte (Akingbemi *et al.*, 2004; Kaimal *et al.*, 2021). De nombreuses modifications de

la qualité du sperme ont été retrouvées. Des diminutions de la concentration en spermatozoïdes, de leur mobilité ainsi qu'une tératospermie ont notamment été retrouvées dans de nombreuses publications à différentes concentrations d'expositions (de 0,5 µg/kg/j à 200 mg/kg/j) et ce, aussi bien après une exposition *in utero* qu'à l'âge adulte (Al-Hiyasat *et al.*, 2002; Shi *et al.*, 2017; Shi *et al.*, 2018; Dai *et al.*, 2021; Ullah *et al.*, 2021; Wu *et al.*, 2021; Darghouthi *et al.*, 2022). Ces modifications de la qualité du sperme sont souvent accompagnées d'une augmentation du stress oxydant intratesticulaire (Chitra *et al.*, 2003; Dai *et al.*, 2021; Ullah *et al.*, 2021). Cependant, seules 5 études sur 11 observent un impact sur le poids des organes reproducteurs après des expositions prolongées à l'âge adulte pour 4 d'entre-elles (Al-Hiyasat *et al.*, 2002; Chitra *et al.*, 2003; Kabuto *et al.*, 2004; Shi *et al.*, 2018; Ullah *et al.*, 2021).

Le BPA et BPS semblent également avoir un impact sur une apparition précoce de la puberté féminine (Honma *et al.*, 2002; Nikaïdo *et al.*, 2004; Ryan *et al.*, 2006). De plus Ahsan *et al.* (2018) montre une diminution de certains paramètres après une exposition de 1 à 10 jours d'âge à forte dose (50 mg/kg/j de BPS ou BPA) : diminution de la sécrétion de LH, FSH et progestérone; diminution des réserves ovocytaires; diminution du nombre de petits par mères; diminution du poids des ovaires et de l'utérus. A l'inverse Kaimal *et al.* (2021) n'observent aucune modification de la reproduction féminine à 5 µg/kg/j de BPA ou BPS lors d'exposition *in utero*.

Les études de reprotoxicité du TCS ont été faites majoritairement sur des modèles *in vivo* aquatiques (Weatherly & Gosse, 2017; Sinicropi *et al.*, 2022). Cependant, les études sur rongeurs montrent des effets concentrations dépendants du TCS sur la reproduction féminine et masculine (Tableau 16). Une modification du poids des organes reproducteurs féminins et masculins ont été retrouvés dans 4 études sur 5 (Kumar *et al.*, 2009; Jung *et al.*, 2012; Cao *et al.*, 2018; Mandal *et al.*, 2020; Priyanka *et al.*, 2020). Egalement, des diminutions des taux d'hormones circulantes ont été retrouvées chez les deux sexes pour toutes les publications étudiant ce paramètre (Kumar *et al.*, 2009; Zorrilla *et al.*, 2009; Feng *et al.*, 2016; Cao *et al.*, 2018; Priyanka *et al.*, 2020) excepté Abd-Elhakim *et al.* (2018).

Peu d'étude de reprotoxicité du MP ont été faites (Tableau 18) et seule une diminution du poids des ovaires sans modification de la reproduction féminine a été retrouvée lors d'exposition post-sevrage à 1000 mg/kg/j de MP (Vo *et al.*, 2010).

De la même manière que précédemment, la majorité des études utilisent des fortes doses, ne se concentrent que sur un PE spécifiquement et ne regarde que l'impact direct ou indirect sur de petites fenêtres (*in utero*, péri natale, ...). De manière générale, l'ensemble des questions aujourd'hui posées quant à l'impact des PE sur les différents systèmes restent sans réponse précise. La nécessité de l'exploration de l'impact d'un cocktail de PE à des doses réalistes sur plusieurs générations est importante pour répondre à la question : quel est l'impact réel des PE sur la santé ?

Espèce étudiée	Sexe	Concentration	Age d'exposition	Effets observés	Concentrations effectives	Références
Rats (Sprague-Dawley)	♀	50 mg/kg/j	21-51j	↑ estradiol, FSH, LH	50 mg/kg/j	Abd-Elhakim et al., 2018
Souris (ICR)	♀	1, 10, 100 mg/kg/j	12-19sem	Pas de modification de l'estradiol Cycles menstruels plus longs ↓ réserves ovocytaires ↓ LH, FSH, progesterone	- 10, 100 mg/kg/j	Cao et al., 2018
Rats (Sprague-Dawley)	♀	30, 100, 300, 600 mg/kg/j	6-20j de gest	Pas de modification LH et FSH ↓ progesterone ↓ estradiol ↓ testostéronémie	30, 100, 300, 600 mg/kg/j 100, 300, 600 mg/kg/j 300, 600 mg/kg/j	Feng et al., 2016
Rats (Sprague-Dawley)	♀	7,5, 37,5, 187,5 mg/kg/j	19-21j	↑ poids utérus	7,5, 37,5, 187,5 mg/kg/j	Jung et al., 2012
Rats (Wistar)	♂	5, 10, 20 mg/kg/j	10-19sem	↓ poids organes reproducteurs ↓ LH, FSH, testostéronémie	10, 20 mg/kg/j 20 mg/kg/j	Kumar et al., 2009
Rats (Wistar)	♂	3, 5 mg/kg/j	1-28j	↓ poids testicules	5 mg/kg/j	Mandal et al., 2020
Rats (Holtzman)	♂ et ♀	0,1, 4, 40, 150 mg/kg/j	6j <i>iu</i> -21j PN	↓ poids organes reproducteurs Impact spermatogénèse ↓ testostéronémie ↓ concentration et mobilité sperme ↓ nombre de petits par mères	150 mg/kg/j 0,1, 4, 40, 150 mg/kg/j 4, 40, 150 mg/kg/j 40, 150 mg/kg/j	Priyanika et al., 2020
Rats (Wistar)	♂	3, 30, 100, 200, 300 mg/kg/j	21-53j	Organes reproducteurs normaux ↓ testostéronémie	- 200 mg/kg/j	Zorrilla et al., 2009

TABLEAU 16 – Impacts du triclosan sur le système reproducteur du rongeur. FSH, hormone folliculostimulante ; gest, gestation ; *iu*, *in utero* ; LH, hormone lutéinisante ; PN, post-natal.

Espèce étudiée	Sexe	Concentration	Age d'exposition
Rats	♀	0,5, 5, 50 mg BPA ou BPS/kg/j	1-10j
Rats (Long-Evans)	♂	2,4, 10 µg, 100, 200 mg BPA/kg/j 2,4 µg BPA/kg/j	21-35j 12j <i>iu</i> -21j PN 21-90j
Souris	♂	5, 25, 100 ng BPA/kg/j	60-90j
Rats (Wistar)	♂	0,2, 2, 20 µg BPA/kg/j	45-90j
Souris (C57BL/6)	♂	2, 20, 200 mg BPS/kg/j	8-12sem
Rats (Wistar)	♂	50 µg/L BPS	3-13sem
Rats (Sprague-Dawley)	♂	40 µg BPA/kg/j	23-30j
Souris (ICR/Jcl)	♀	2, 20 µg BPA/kg/j	11-17j <i>iu</i>
Rats (Long-Evans)	♂	5 µg/L BPA ou BPS	21-35j
Souris (ICR)	♂	5, 10 µg BPA/kg/j	7j pré-gest-4sem PN
Rats (Sprague-Dawley)	♀ et ♂	5 µg BPA ou BPS/kg/j	6-21j <i>iu</i>
Rats (F344/N)	♀	0,1 mg BPA/kg/j	3j <i>iu</i> -20j PN
Souris (ICR)	♀	0,5, 10 mg BPA/kg/j	11-19j <i>iu</i>
Souris (C57/Bl-6)	♀	2, 200 µg BPA/kg/j	3j <i>iu</i> -21j PN
Souris (CD-1)	♂	50 µg, 10 mg BPA ou BPS/kg/j	1-60j
Souris (CD-1)	♂	0,5, 20, 50 µg BPA ou BPS/kg/j	11-21j <i>iu</i>
Rats (Wistar)	♂	1, 10, 100 µg BPA/ind/inj	1-11j
Souris (ICR)	♂	0,1, 1, 5, 10 µg BPA/ind/inj	
Souris (CD-1)	♀	0,5, 5, 50 µg BPA ou BPS/kg/j	10-17j <i>iu</i>
Rats (Sprague-Dawley)	♂	0,5, 5, 50 µg/L BPS	3-51sem
Rats (Sprague-Dawley)	♂	50, 100 mg BPS/kg/j	

TABLEAU 17 – Impacts du bisphénol A (BPA) et S (BPS) sur le système reproducteur du rongeur. FSH,

Effets observés	Concentrations effectives	Références
↓ LH et FSH ↓ réserves ovocytaires ↓ poids oviaires et utérus ↓ LH, FSH, progestérone ↓ nombre petits par mères	5 mg BPA/kg/j 5, 50 mg BPA ou BPS/kg/j 50 mg BPA ou BPS/kg/j	<i>Ahsan et al., 2018</i>
↓ testostéronémie et LH Pas de modification hormonale Organes reproducteurs normaux ↑ LH sérique Organes reproducteurs normaux	2,4 µg/kg/j - 2,4 µg BPA/kg/j -	<i>Akingbemi et al., 2004</i>
↓ poids testicules ↓ concentration sperme	5, 25, 100 ng BPA/kg/j 25, 100 ng de BPA/kg/j	<i>Al-Hiyasat et al., 2002</i>
↓ poids testicules et épидидyme ↑ stress oxydant intra-épididymaire	0,2, 2, 20 µg BPA/kg/j	<i>Chitra et al., 2003</i>
Organes reproducteurs normaux ↑ stress oxydant testiculaire ↓ concentration et mobilité sperme ↑ anomalies spermiques	- 2, 20, 200 mg BPS/kg/j 20, 200 mg BPS/kg/j 200 mg BPS/kg/j	<i>Dai et al., 2021</i>
Organes reproducteurs normaux Pas de stress oxydant testiculaire ↓ concentration, viabilité et mobilité sperme, ↑ anomalies	- 50 µg/L BPS	<i>Darghouthi et al., 2022</i>
↓ testostéronémie à 30 et 105j	40 µg BPA/kg/j	<i>Della Seta et al., 2006</i>
Puberté précoce	20 µg BPA/kg/j	<i>Honma et al., 2002</i>
↓ testostéronémie Organes reproducteurs normaux	5 µg/L BPA -	<i>Jeminiwa et al., 2021</i>
↓ poids testicules	10 µg BPA/kg/j	<i>Kabuto et al., 2004</i>
Pas d'impact sur la grossesse Organes reproducteurs normaux Pas de modification de l'ovogenèse Pas de modification de la testostéronémie	-	<i>Kaimal et al., 2021</i>
Pas d'impact sur la grossesse	-	<i>Negishi et al., 2004</i>
Puberté précoce Cycles menstruels plus longs	10 mg BPA/kg/j 0,5, 10 mg BPA/kg/j	<i>Nikaido et al., 2004</i>
Puberté précoce	200 µg BPA/kg/j	<i>Ryan et al., 2006</i>
↓ testostéronémie ↓ mobilité sperme	50 µg, 10 mg BPA ou BPS/kg/j 10 mg BPA ou BPS/kg/j	<i>Shi et al., 2017</i>
↑ poids testicules ↓ concentration sperme ↓ mobilité sperme	0,5 µg BPA/kg/j 0,5, 20 µg de BPA ou BPS/kg/j 0,5 µg BPS/kg/j	<i>Shi et al., 2018</i>
↑ déformations spermatides Organes reproducteurs normaux ↑ déformations spermatides Organes reproducteurs normaux	10, 100 µg/ind/inj - 1, 5, 10 µg/ind/inj -	<i>Toyama et al., 2004</i>
Apparition puberté normale Pas de modification hormonale	-	<i>Tucker et al., 2018</i>
↓ poids épидидyme ↑ stress oxydant testiculaire ↓ LH et FSH ↓ concentration et mobilité sperme ↓ testostéronémie	50 µg/L BPS 5 et 50 µg/L BPS	<i>Ullah et al., 2021</i>
Pas de modification de la taille des organes reproducteurs ↓ concentration sperme et ↑ des anomalies	- 50, 100 mg BPS/kg/j	<i>Wu et al., 2021</i>

hormone folliculostimulante; gest, gestation; *iu*, *in utero*; LH, hormone lutéinisante; PN, post-natal.

Espèce étudiée	Sexe	Concentration	Age d'exposition	Effets observés	Concentrations effectives	Références
Rats (Wistar)	♂	0,1, 1 % de MP	4-12 sem	Pas de modification du sperme Pas de modification de la spermatogenèse Pas de modification des hormones circulantes	-	<i>Oishi, 2004</i>
Rats (Sprague-Dawley)	♀	62,5, 250, 1000 mg/kg/j	21-40j	Pas de modification de la puberté Pas de modification du cycle menstruel Pas de modification des hormones circulantes ↓ poids ovariens	- 1000 mg/kg/j	<i>Vo et al., 2010</i>

TABLEAU 18 – Impacts du méthylparabène (MP) sur le système reproducteur du rongeur.

Problématiques et objectifs

La question de l'impact des polluants, dont celui des PE, sur la santé humaine est une problématique de plus en plus discutée dans notre société. Un lien entre l'exposition aux PE et l'apparition de pathologies chroniques a été décrit par de nombreuses études épidémiologiques, mais on ne connaît que peu de choses sur les mécanismes à la base de leur action. Pourtant l'Homme est exposé chroniquement à de nombreux produits chimiques car ceux-ci sont retrouvés dans l'alimentation et les produits de la vie quotidienne (cosmétiques, plastiques, ...). De plus, il existe des périodes fragiles au cours de la vie, notamment autour de la gestation où, selon la théorie des DOHaD, toute exposition ou perturbation de l'environnement périnatale induit des modifications sur la génération exposée in utero mais aussi sur les générations d'après. On peut donc tout naturellement se demander quels peuvent être les effets de ces polluants sur la santé humaine, mais surtout sur la santé de leurs descendants.

Dans ce cadre, 2 grandes études épidémiologiques françaises, EDEN, au niveau national, et SEPAGES, au niveau du bassin grenoblois, ont étudié l'exposition aux PE chez les femmes enceintes. Trois PE ont été retrouvés majoritairement dans leurs urines : le BPS, le MP et le TCS. Pourtant, comme vu précédemment, la majorité des études sur modèle rongeur ont étudiés l'impact de ces PE seuls, après une exposition directe ou indirecte de courte durée et à forte dose uniquement. De ce fait, la question de l'impact chronique de ces PE en cocktail, à doses réalistes et sur un modèle transgénérationnel, permettant d'étudier les modifications épigénétiques et l'impact sur la santé des descendants reste à être exploré.

Les concentrations moyennes et hautes rapportées dans les études épidémiologiques EDEN et SEPAGES, ont été utilisées afin de reproduire une exposition fidèle à la réalité sur un modèle rongeur. Les effets de ce cocktail sur le métabolisme énergétique, le cerveau et le système reproducteur ainsi que les mécanismes épigénétiques associés à leur transmission à la descendance ont été étudiés. Une analyse à deux

âges différents (post-sevrage et adulte) a permis d'étudier l'impact des PE sur différentes fenêtres de développement.

Une description du modèle transgénérationnel ainsi que des différentes méthodes utilisées sont présentées dans la partie "Matériel et méthodes". Une première partie "Métabolisme énergétique" décrit les impacts directs, indirects et transgénérationnels des mélanges de PE sur le tissu hépatique grâce à une analyse de l'intégrité du tissu, du fonctionnement mitochondrial, du stress oxydant et du transcriptome. Également, les paramètres glycémiques ont été étudiés grâce à des tests de tolérance au glucose et à l'insuline, aux dosages des réserves en substrats énergétiques dans les différents compartiments, aux dosages des différents paramètres sanguins et à l'exploration de la sensibilité des récepteurs à l'insuline. Une deuxième partie "Cerveau, neuroendocrinologie et comportement" décrit les impacts directs, indirects et transgénérationnels des mélanges de PE sur l'apparition de troubles comportementaux que sont l'hyperactivité, l'anxiété et la dépression. Ces mesures sont complétées par une étude par imagerie à résonance magnétique (IRM) à haute résolution permettant de visualiser les modifications structurelles induites par les PE. Enfin, une dernière partie "Système reproducteur" décrit les impacts directs, indirects et transgénérationnels des mélanges de PE sur la fertilité féminine, masculine et le bon déroulement de la gestation.

Deuxième partie

Matériel et méthodes

Toutes les procédures expérimentales ont été menées en accord avec les directives 2010/63/UE dans une animalerie agréée au LBFA (agrément n°B3842110001) et au GIN (agrément n°C3851610008). Elles ont été examinées et approuvées par le comité d'éthique institutionnel pour les soins aux animaux (ComEth Grenoble - C2EA - 12) et autorisées par le ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche français (protocoles APAFIS n°2019062321234800 et n°2020031313009152 respectivement).

Chapitre 5

Modèle d'exposition

5.1 Mélange de PE

Le BPS (103039, Merck, Allemagne), le TCS (L18655, Alfa Aesar, Allemagne) et le MP (H5501, Merck, Allemagne) ont été chacun dilués dans de l'éthanol absolu (32221, Merck, Allemagne) afin de former des solutions mères de 0,5 g/L, 2 g/L et 2 g/L respectivement. Ces solutions mères ont été conservées à 4°C et ont été refaites tous les mois afin de garantir la concentration en polluant. A l'aide des solutions mères, l'eau de boisson des groupes exposés a été modifiée afin d'obtenir les expositions auxquelles la population française est réellement exposée selon les données des études épidémiologiques EDEN et SEPAGES (Philippat *et al.*, 2014; Philippat *et al.*, 2017) :

- Un groupe faiblement contaminé, aussi appelé "*low dose*" (LD) et qui correspond à l'exposition moyenne de la population française, soit une exposition à 50 ng/kg/j de BPS; 200 ng/kg/j de MP; 20 ng/kg/j de TCS et 0,03 % de solvant vecteur
- Un groupe fortement contaminé, aussi appelé "*high dose*" (HD) et qui correspond à l'exposition la plus forte retrouvée dans la population française, soit une exposition à 5000 ng/kg/j de BPS; 20 000 ng/kg/j de MP; 2000 ng/kg/j de TCS et 0,03 % de solvant vecteur

L'eau de boisson du groupe contrôle a été ajustée afin de tenir compte de la présence du solvant vecteur dans chacun des groupes exposés à hauteur de 0,03 % de solvant vecteur.

5.2 Validation du modèle d'exposition

5.2.1 Contamination externe due aux plastiques

Afin de s'assurer d'une absence de contamination par les plastiques des cages en polysulfone (Tecniplast, Italie) et des biberons en polyphénylsulfone (Tecniplast, Italie), un dosage des concentrations en BPS, MP et TCS a été fait dans une eau traitée aux UV après avoir été en contact pendant 4 jours avec ces plastiques (Rovaltain, France) (Tableau 19). Aucune contamination par les PE étudiés n'a été induite par les cages et les biberons après 4 jours mis à part une légère contamination de l'eau des biberons au BPS. Un changement de l'eau sera donc réalisé tous les 4 jours pour limiter une contamination externe.

	Biberon en polyphénylsulfone	Cage en polysulfone
Triclosan ($\mu\text{g/L}$)	0	0
Bisphénol S ($\mu\text{g/L}$)	0,197	0
Méthylparabène ($\mu\text{g/L}$)	0	0

TABLEAU 19 – Concentrations des différents contaminants retrouvées dans de l'eau traitée aux UV après 4 jours au contact des plastiques.

5.2.2 Interactions contenant-contenu

Les plastiques sont connus pour présenter des interactions contenant-contenu (phénomènes d'adsorption, d'absorption, perméation et relargage) pouvant modifier les concentrations du contenu. Afin d'évaluer ces risques d'interactions entre le plastique des biberons et les PE étudiés, un mélange des PE dans l'eau de boisson ($20 \mu\text{g/L}$ de TCS; $70 \mu\text{g/L}$ de BPS et $200 \mu\text{g/L}$ de MP) a été dosé à t_0 , 24h et 4 jours après remplissage du biberon et comparé à une même solution dans un contenant témoin en verre (Rovaltain, France) (Tableau 20). Jusqu'à 4 jours, aucune modification de la concentration du contenu n'a été observée dans l'eau de boisson.

5.2.3 Test d'appétence

Afin de s'assurer une absence de modification du goût de l'eau par les PE, et donc une modification de la consommation d'eau par les animaux, un test d'appétence a

	Mélange	Biberon en polyphénylsulfone		Cage en polysulfone	
	t ₀	t = 24h	t = 4j	t = 24h	t = 4j
Triclosan (µg/L)	21,416	20,396	19,472	22,454	22,538
Bisphénol S (µg/L)	69,977	69,328	69,766	70,326	69,744
Méthylparabène (µg/L)	192,560	200,111	195,922	203,380	203,581

TABLEAU 20 – Le mélange des PE (t₀) dans l'eau de boisson a été effectué. Le mélange a ensuite été placé dans les différents contenants en plastique nécessaires à l'entretien des animaux. Après 24h et 4 jours au contact des plastiques, de nouveaux dosages ont été effectués afin de valider l'absence d'interactions contenant-contenu.

été effectué. Six rats Wistar mâles adultes d'environ 14 semaines ont été mis en cage individuelle afin de mesurer la consommation d'eau. Le test a duré 4 semaines, avec chaque semaine une nouvelle composition d'eau :

- Semaine 1 : eau non contaminée
- Semaine 2 : eau faiblement contaminée (LD)
- Semaine 3 : eau contaminée au solvant vecteur (éthanol) à une concentration de 0,03%
- Semaine 4 : eau fortement contaminée (HD)

En plus de la mesure de la consommation d'eau quotidienne pendant 7 jours, la prise de poids a également été mesurée 2 fois par semaine afin de rapporter la consommation d'eau en ml/j/100g de poids corporel (Figure 38). Seule une modification de la consommation d'eau a été retrouvée avec le groupe d'eau non contaminée le jour 1, 5, 6 et 7. La présence ou non de PE n'a cependant pas entraîné de modification de la consommation d'eau par rapport au groupe contrôle (vecteur éthanol).

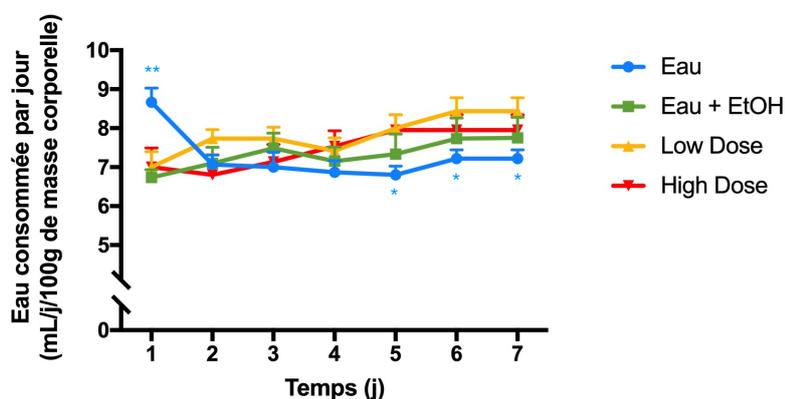


FIGURE 38 – Résultats du test d'appétence (n=6). Les données sont exprimées en moyenne \pm l'erreur type (SEM). Les groupes exposés sont comparés aux données du groupe contrôle eau + éthanol (EtOH). De même les données contrôle, "low dose" et "high dose" ont été comparés au groupe eau. En bleu sont exprimés les résultats statistiques eau *versus* contrôle, "low dose" et "high dose" * p-valeur < 0,05; ** p-valeur < 0,01.

Chapitre 6

Expérimentations

6.1 Animaux

L'ensemble des travaux ont été réalisés sur des rats de souche Wistar (Charles River, France). Les conditions d'élevage des différentes générations sont décrites ci-après. Pour toutes les générations, les rats ont été placés par 6 maximum dans des cages en polysulfone (Tecniplast, Italie) remplies de sciures de peuplier (Serlab, France) et sans enrichissement afin d'éviter une contamination supplémentaire des rats par les polluants étudiés ainsi que d'autres polluants pouvant biaiser l'étude. Une photopériode de 12h/12h (jour/nuit) a été établie afin de ne pas perturber le cycle circadien. La pièce a été maintenue à $22^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$. Les rats ont été nourris *ad libitum* avec de la nourriture pauvre en phyto-oestrogène (Genobios, France) dont la composition est présentée dans la Figure 39 ci-après. L'eau a été distribuée 2 fois par semaine dans des biberons en polyphénylsulfone (Tecniplast, Italie). Le poids des rats ainsi que la quantité de nourriture consommée ont été mesurés de manière hebdomadaire de l'âge de 3 à 12 semaines pour tous les sexes et toutes les générations (F0 à F3) Le nombre de femelles et de mâles ayant participé au suivi pour chaque groupes et générations est récapitulé dans le Tableau 21.

	Génération F0			Génération F1			Génération F2			Génération F3		
	C	LD	HD									
♀	12	19	10	12	11	11	12	14	14	14	13	13
♂	18	9	10	12	12	12	10	12	12	13	13	13

TABLEAU 21 – Nombre d'animaux ayant participé au suivi de la prise de poids et de la prise alimentaire pour chaque groupe et chaque génération de 4 à 12 semaines. C, contrôle; LD, "low dose"; HD, "high dose".

Composition nutritive		Acides gras (par kg)		Vitamines (par kg)	
Protéines	18,9 %	C16:0	7,5 g	Vitamine A	15 000 IE
Lipides	5,5 %	C18:0	3,0 g	Vitamine D3	1 200 IE
Fibres	3,5 %	C20:0	0,2 g	Vitamine E	90 mg
Minéraux, cendres	7,0 %	C18:1	13,0 g	Vitamine K	5 mg
Extraits non-azotés	53,1 %	C18:2	21,0 g	Thiamine (B1)	15 mg
Matières sèches	88,0 %	C18:3	13,0 g	Riboflavine (B2)	10 mg
Energie (par kg)		Acides aminés (par kg)		Pyridoxine (B6)	10 mg
Energie brute	16,6 MJ	Arginine	9,0 g	Cobalamine (B12)	50 mg
Energie métabolisable	13,9 MJ	Cystine	4,0 g	Biotine	200 µg
Minéraux (par kg)		Histidine	4,5 g	Choline	1 000 mg
Calcium	10,0 g	Isoleucine	7,0 g	Acide folique	2 mg
Phosphore	6,5 g	Leucine	21,0 g	Niacine	40 mg
Sodium	3,0 g	Lysine	9,0 g	Acide pantothénique	20 mg
Magnésium	2,5 g	Méthionine	4,5 g		
Oligo-éléments (par kg)		Phénylalanine	10,0 g		
Fer	200,0 mg	Thréonine	6,5 g		
Iode	4,0 mg	Tryptophane	2,0 g		
Cuivre	15,0 mg	Tyrosine	7,0 g		
Cobalt	1,5 mg				
Manganèse	120,0 mg				
Sélénium	0,2 mg				
Zinc	75,0 mg				

FIGURE 39 – Composition de la nourriture pauvre en phyto-oestrogène (Genobios, France).

6.1.1 Modèle transgénérationnel

Une génération, dite F-1, composée de 36 femelles et 26 mâles âgés d'environ 12 semaines, a été habituée pendant 1 semaine à l'animalerie puis a été séparée aléatoirement en 3 groupes selon le schéma suivant :

- Un groupe contrôle composé de 10 femelles et 4 mâles
- Un groupe low dose composé de 10 femelles et 8 mâles
- Un groupe high dose composé de 10 femelles et 8 mâles

Les mâles et femelles de chaque groupe ont ensuite été exposés ou non aux PE pendant 2 semaines avant d'être reproduit afin d'obtenir une génération F0 de mâles et femelles exposés du stade gamète jusqu'à l'âge de 19 semaines. La génération F0 a été reproduite à l'âge de 12 semaines afin de donner une génération F1 dont les mâles et femelles ont été exposés indirectement du stade gamète jusqu'au sevrage à 21 jours. La génération F1 a également été reproduite à l'âge de 12 semaines afin de donner une génération F2. Cette F2 a donc été indirectement exposée au stade gamète. Afin d'avoir un modèle transgénérationnel, la génération F2 a été reproduite à l'âge de 12 semaines afin de donner une génération F3 n'ayant jamais été exposée (Figure 40).

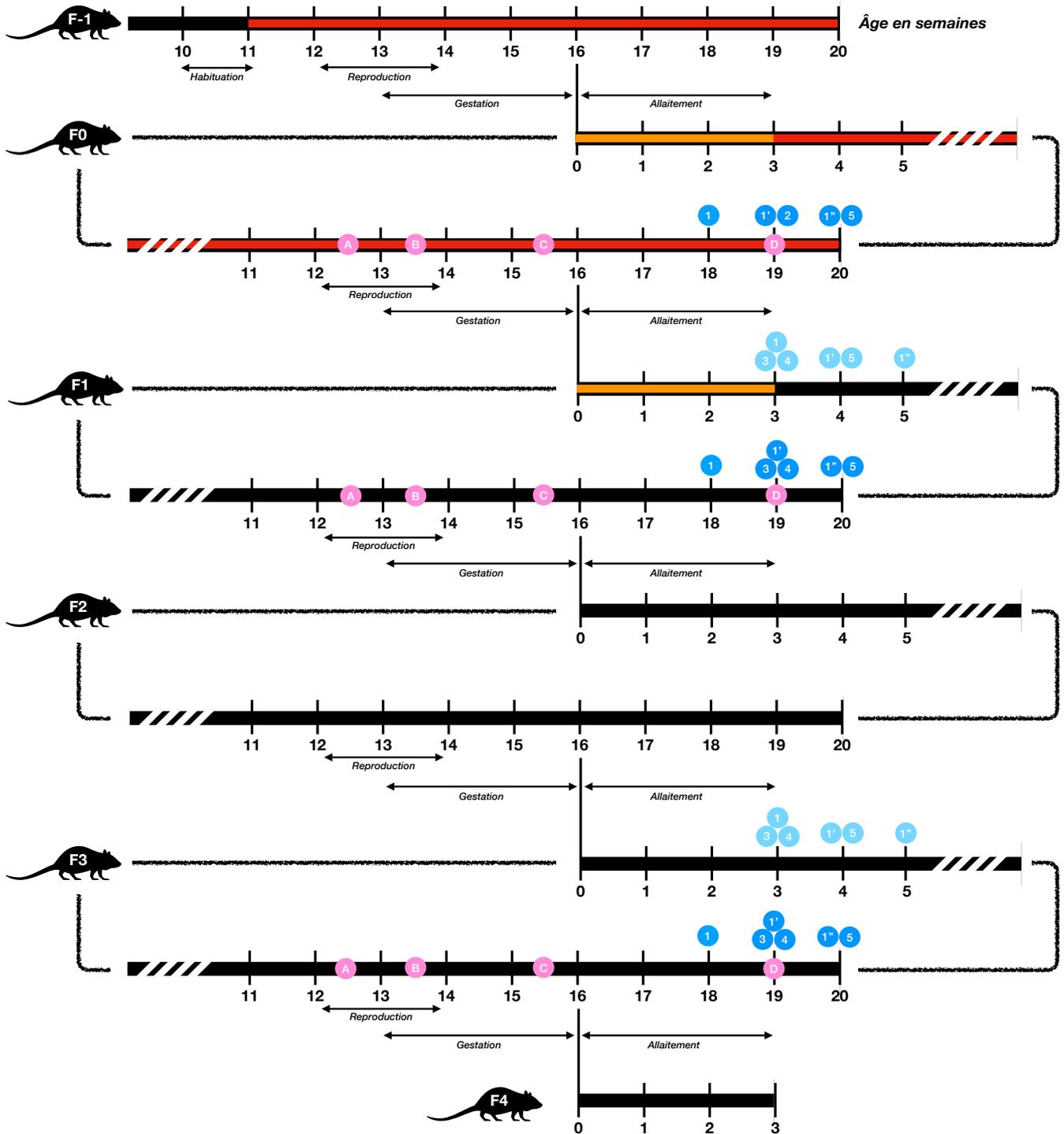


FIGURE 40 – Récapitulatif des expérimentations sur le modèle transgénérationnel.

Légende

-  Exposition directe par l'eau de boisson
-  Exposition indirecte par le lait maternel

Manipulation *in vivo* sur les femelles

-  Frottis vaginaux
-  Glycémie gestationnelle à 7 jours de grossesse
-  Glycémie gestationnelle à 18 jours de grossesse
-  Euthanasie par décapitation

Manipulation *in vivo* sur les mâles adultes  ou juste sevrés 

-   Test de tolérance au glucose
-   Test de tolérance à l'insuline
-   Euthanasie par exsanguination
-  Euthanasie par décapitation +
extraction de mitochondries hépatiques
-   Injection de NaCl en intrapéritonéal +
euthanasie par décapitation +
extraction de mitochondries hépatiques
-   Injection d'insuline en intrapéritonéal +
euthanasie par décapitation
-   Comportement +
euthanasie par perfusion intra-cardiaque pour IRM

6.1.2 Reproduction

Le nombre de femelles et de mâles ayant participé à la reproduction pour chaque groupes et générations est récapitulé dans le Tableau 22. La reproduction a été effectuée entre les mâles et femelles provenant d'un même groupe et de la même génération.

	Génération F0			Génération F1			Génération F2			Génération F3		
	C	LD	HD									
♀	28	41	35	22	22	22	30	30	30	28	27	27
♂	22	26	22	40	44	41	30	30	30	42	42	42

TABLEAU 22 – Nombre d'animaux ayant participé à la reproduction pour chaque groupe et chaque génération. C, contrôle; LD, "low dose"; HD, "high dose".

Afin de définir le premier jour de grossesse, la reproduction des rats a été suivie à l'aide de frottis vaginaux. A partir de l'âge de 12 semaines et pendant 5 jours, les rats mâles et femelles d'un même groupe et d'une même génération ont été mis ensemble chaque soir et séparés chaque matin afin de connaître précisément la date de début de grossesse. Des frottis ont été effectués tous les matins pendant 4 jours à l'aide de coton tige et de sérum physiologique (NaCl 0,9 %, Lavoisier, France). Le frottis a ensuite été étalé sur une lame en verre puis lue au microscope. Le 1^{er} jour de grossesse a été défini lorsque des spermatozoïdes ont été observés (Figure 41). Les mâles et femelles ont ensuite été laissés ensemble pendant 1 semaine supplémentaire afin de conserver un stimulus copulatoire permettant la libération de prolactine nécessaire au maintien du corps jaune (Freeman *et al.*, 2000; Maeda *et al.*, 2000).

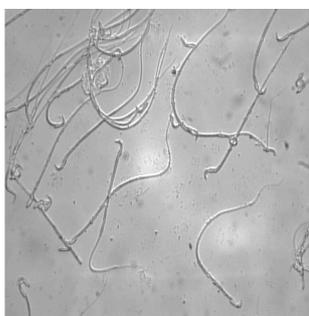


FIGURE 41 – Photo d'un frottis vaginal d'une femelle fécondée. Les longs filaments représentent les queues des spermatozoïdes. Il est également possible de ne visualiser que la tête du spermatozoïde ressemblant à un crochet.

A la naissance, les portées sont égalisées à 10 petits (F0 à F3) afin d'assurer un allaitement équivalent pour tous les rats des différentes mères et après avoir dénombré le nombre total de petits ainsi que la quantité de mâles et de femelles par portée pour les générations F0 ($n=22$, $n=32$ et $n=23$ pour les groupes contrôles, LD et HD respectivement), F1 ($n=12$, $n=14$ et $n=13$ pour les groupes contrôles, LD et HD respectivement), F2 ($n=28$, $n=26$ et $n=25$ pour les groupes contrôles, LD et HD respectivement) et F3 ($n=17$ pour tous les groupes). Les rats surnuméraires ont été donnés à des mères du même groupe ayant eu une portée à moins de 10 petits, ou ont été euthanasiés par décapitation. Les rats des générations F1 ($n_{\text{♀Contrôle}}=98$, $n_{\text{♀LD}}=150$ et $n_{\text{♀HD}}=93$ et $n_{\text{♂Contrôle}}=104$, $n_{\text{♂LD}}=148$ et $n_{\text{♂HD}}=123$), F2 ($n_{\text{♀Contrôle}}=69$, $n_{\text{♀LD}}=71$ et $n_{\text{♀HD}}=56$ et $n_{\text{♂Contrôle}}=49$, $n_{\text{♂LD}}=66$ et $n_{\text{♂HD}}=67$), F3 ($n_{\text{♀Contrôle}}=115$, $n_{\text{♀LD}}=135$ et $n_{\text{♀HD}}=98$ et $n_{\text{♂Contrôle}}=144$, $n_{\text{♂LD}}=124$ et $n_{\text{♂HD}}=142$) et F4 ($n_{\text{♀Contrôle}}=62$, $n_{\text{♀LD}}=79$ et $n_{\text{♀HD}}=62$ et $n_{\text{♂Contrôle}}=101$, $n_{\text{♂LD}}=94$ et $n_{\text{♂HD}}=86$) ont été identifiés par section des doigts entre 7 et 10 jours et ont été sevrés et pesés à exactement 21 jours.

L'ensemble des protocoles expérimentaux suivants ont été effectués pour les générations F0, F1 et F3 uniquement. La F2, mesurant un impact indirect des PE, n'a pas été étudiée, sauf mention contraire. L'ensemble des manipulations in vivo et euthanasies sont retrouvés schématisés par la Figure 40.

6.2 Tests in vivo

6.2.1 Suivi de la glycémie gestationnelle

A 7 jours et 18 jours de grossesse et après un jeun de 16h, une mesure de la glycémie a été effectuée à l'aide d'un glucomètre (Accu-Chek, Roche, Suisse) pour la génération F0 ($n=19$, $n=28$ et $n=22$ pour les groupes contrôles, LD et HD respectivement), F1 ($n=11$, $n=12$ et $n=13$ pour les groupes contrôles, LD et HD respectivement), et F3 ($n=18$, $n=15$ et $n=16$ pour les groupes contrôles, LD et HD respectivement). La mesure a été suivie d'une prise de sang en bout de queue dans un tube hépariné (environ 2 μL d'héparine 50 000 UI pour 250 μL de sang) avant d'être centrifugé à 1200 g pendant 6 minutes à 4°C. Les femelles dont la date de début de grossesse est indéfinie ont également été prélevées afin de maintenir un facteur stress similaire.

6.2.2 Test de tolérance au glucose

Douze mâles âgés de 19 semaines (F0, F1 et F3) et de 3 semaines (F1 et F3) de chaque groupe ont été mis à jeun la veille du test (n=12 pour tous les groupes et toutes les générations). Le lendemain matin, après 16h de jeûne, les animaux ont été pesés puis laissés au calme pendant 30 min sous des lampes chauffantes afin d'entraîner une vasodilatation et de faciliter le prélèvement sanguin. Une incision en bout de queue, après désinfection des ciseaux et de la queue à l'alcool 70 %, a été effectuée afin de mesurer la glycémie à jeun suivie d'une prise de sang. Le sang a été prélevé dans un tube hépariné (environ 2 μ L d'héparine 50 000 UI pour 250 μ L de sang) avant d'être centrifugé à 1200 g pendant 6 minutes à 4°C. Le plasma a été récupéré et conservé à -80°C avant mesure de l'insulinémie.

Une mesure de la glycémie a été faite toutes les 10 minutes jusqu'à stabilisation de la glycémie avant de commencer le test. Chaque rat a ensuite été gavé au glucose 30 % (Lavoisier, France), à raison de 2 g/kg de poids corporel. La glycémie a été mesurée toutes les 5 minutes pendant 45 minutes puis à 60, 90 et 120 minutes après le gavage au glucose à l'aide d'un glucomètre (Accu-Chek, Roche, Suisse). Les mesures de glycémie ont été représentées en fonction du temps, et les aires sous la courbe (AUC) ont été rapportées au temps t_0 et exprimées en mg/dL*120 min.

6.2.3 Test de tolérance à l'insuline

Une semaine après le test de tolérance au glucose, les 12 mêmes mâles âgés de 20 semaines (F0, F1 et F3) et de 4 semaines (F1 et F3) de chaque groupe ont été mis à jeun le matin du test. Après 5h de jeûne, les animaux ont été pesés puis laissés au calme pendant 30 min sous des lampes chauffantes afin d'entraîner une vasodilatation et de faciliter le prélèvement sanguin. Une incision en bout de queue, après désinfection des ciseaux et de la queue à l'alcool 70 %, a été effectuée afin de mesurer la glycémie à jeun.

Une mesure de la glycémie a été faite toutes les 10 minutes jusqu'à stabilisation de la glycémie avant de commencer le test. Chaque rat a ensuite reçu une injection d'insuline, à raison de 1mU/g de poids corporel, en intrapéritonéal. La glycémie a été mesurée à 5, 10, 20, 30, 40, 50, 60 et 90 minutes après l'injection à l'aide d'un

glucomètre (Accu-Chek, Roche, Suisse). Pour les rats de 4 semaines (F1, F3), les mesures ont été faites jusqu'à 50 minutes puis une injection systématique de glucose 30 % (Lavoisier, France), à raison de 1g/kg, a été réalisée en intra-péritonéal afin d'éviter une hypoglycémie trop importante. Les mesures de glycémie ont été représentées en fonction du temps, et les aires au-dessus de la courbe (AOC) ont été rapportées au temps t_0 et exprimées en mg/dL*90 min pour les rats de 20 semaines (F0, F1, F3) ou mg/dL*50 min pour les rats de 4 semaines (F1, F3).

6.2.4 Tests comportementaux

L'ensemble des mâles inclus dans la partie "Cerveau, neuroendocrinologie et comportement" de l'étude n'a subi aucun test *in vivo* au préalable. Une manipulation quotidienne des rats a été effectuée pendant 1 semaine afin d'habituer les rats à être pris (aussi appelé "*handling*") pour de ne pas engendrer de biais expérimentaux, tel que de l'anxiété, lors des tests comportementaux. Après la semaine de "*handling*", les tests comportementaux ont été fait du moins stressant au test le plus stressant sur 2 jours : l'*open field* puis l'*elevated plus maze* le matin du 1^{er} jour de test. Le test de Porsolt a été effectué le matin du 2^{ème} jour de test avant l'euthanasie des rats (voir 6.3.1.4).

6.2.4.1 Test de l'*open field*

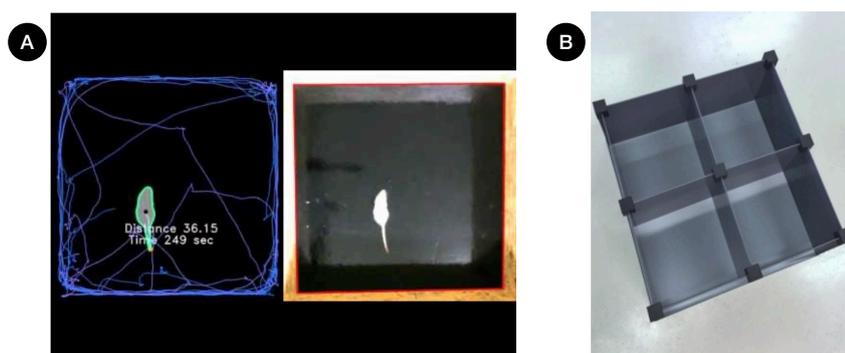


FIGURE 42 – Photos du test comportemental de l'*open field*. (A) représente un rat dans un des carrés de l'*open field* tandis que (B) représente le matériel nécessaire à la mesure composé de 4 cases permettant la mesure de 4 rats en même temps.

Afin de mesurer l'activité locomotrice (Figure 42), des rats mâles de 20 semaines (F0, F1, F3) et de 4 semaines (F1, F3) (n=12 par groupe pour l'ensembles des âges et générations) ont été placés dans une arène faite de Perspex blanc (Castorama,

Saint-Martin-d'Hères, France) de 50 x 50 x 40 cm faiblement éclairée. Les rats ont été filmés pendant 30 min. Une analyse de la distance parcourue dans le temps a été effectuée grâce au système de tracking Noldus du logiciel Ethovision module XT (Wageningen, Pays-Bas).

6.2.4.2 Test de l'*elevated plus maze* (EPM)

Afin de mesurer l'anxiété, des rats de 20 semaines (F0, F1, F3) et de 4 semaines (F1, F3) (n=12 par groupe pour l'ensembles des âges et générations) ont été placés dans un labyrinthe en croix fait de Perspex noir (Castorama, Saint-Martin-d'Hères, France) faiblement éclairé et constitué de 2 bras ouverts et 2 bras fermés. Le labyrinthe est surélevé de 55 cm, tous les bras font chacun 50 cm de longueur et 10 cm de largeur et les bras fermés sont constitués de murs de 40 cm de haut (Figure 43). Les rats ont été placés au centre du labyrinthe et ont été filmés pendant 5 min. Une analyse du temps cumulé passé dans les bras ouverts et fermés a été effectuée grâce au système de tracking Noldus du logiciel Ethovision module XT (Wageningen, Pays-Bas). Un rat anxieux passera plus de temps dans un environnement clos et donc dans les bras fermés (Kraeuter *et al.*, 2019).

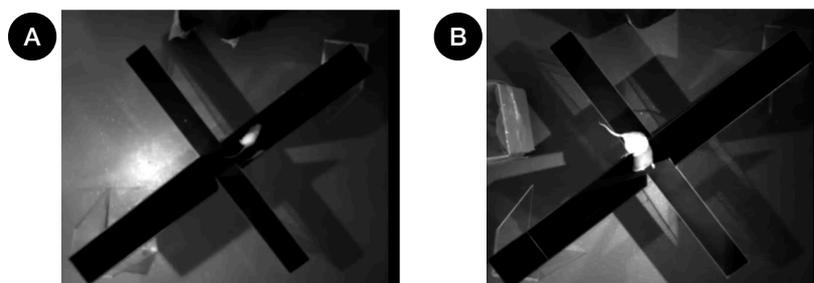


FIGURE 43 – Photos du test comportemental de l'*elevated plus maze* en présence d'un raton âgé de 4 semaines (A) et d'un rat adulte âgé de 20 semaines (B).

6.2.4.3 Test de Porsolt ou de nage forcé

Afin de mesurer l'état émotionnel, des rats de 20 semaines (F0, F1, F3) et de 4 semaines (F1, F3) (n=12 par groupe) ont été placés dans un cylindre en Plexiglas transparent de 40 cm de haut et 20 cm de diamètre remplie d'eau à $24 \pm 1^\circ\text{C}$ jusqu'à 30 cm de haut (Figure 44) et ont été filmés pendant 5 min sur fond noir dans



FIGURE 44 – Photos du test comportemental de Porsolt en présence de rats adultes âgés de 20 semaines.

une pièce faiblement éclairée. Une analyse du temps cumulé passé à être mobile ou immobile dans l'eau a été faite grâce au système de tracking Noldus du logiciel Ethovision module XT (Wageningen, Pays-Bas). Un rat dit "déprimé" passera plus de temps à être immobile (Castagné *et al.*, 2011).

6.3 Euthanasies

Différentes méthodes d'euthanasies ont été effectuées. De manière générale, pour les mâles n'ayant pas subi de test *in vivo* et pour une partie des femelles, la décapitation a été utilisée afin de ne pas mesurer l'impact de l'anesthésiant sur les organes et ne pas biaiser l'étude. Les mâles ayant subi des tests de tolérances *in vivo*, inclus dans la partie neurologie et certaines femelles (dont les résultats ne sont pas présentés dans ce manuscrit), ont été euthanasiés par exsanguination après anesthésie générale par isoflurane dans le but de faire des analyses histologiques des organes. Le récapitulatif des différentes euthanasies par sexe, âge et générations est retrouvé dans la Figure 40.

Les différentes euthanasies sont précisément décrites dans les parties suivantes. Pour l'ensemble des euthanasies, excepté la perfusion intra-cardiaque, l'ensemble des conditions suivantes ont été appliquées. Toutes les euthanasies ont été précédées d'un jeûne de 16h et d'une pesée du rat. Après chaque euthanasie, la glycémie a été mesurée grâce à une goutte de sang (Accu-Chek, Roche, Suisse) puis le sang a été prélevé dans un tube d'héparine de lithium (ThermoFisher Scientific, Etats-Unis) et centrifugé à 1200 g pendant 6 minutes à 4°C afin de récupérer le plasma. Le poids des différents organes a été mesuré afin d'établir une composition corporelle et les organes ont été échantillonnés dans des cryotubes, plongés dans l'azote liquide puis

conservés à -80°C. L'ensemble des organes mesurés et collectés pour les différentes euthanasies est retrouvé dans le Tableau 23. La composition corporelle a été analysée après normalisation du poids des organes par rapport au poids total de l'animal pour l'ensemble des euthanasies effectuées.

	Décapitation		Test de charge (NaCl)		Test de charge (insu.)		Exsanguination	
	Pesé?	Prélevé?	Pesé?	Prélevé?	Pesé?	Prélevé?	Pesé?	Prélevé?
erveau	O	O	O	O	O	N	O	O
Surrénale	O	N	O	N	O	N	O	N
Foie	O	O	O	O	O	O	N	O
Pancréas	O	O	O	O	O	N	O	O
Muscle gastroc.	O	N	O	O	O	O	O	N
Muscle plantaire	O	O	O	O	O	N	O	O
Muscle soléaire	O	N	O	N	O	N	O	N
TA mésen.	O	N	O	N	O	N	O	N
TA épi.	O	N	O	N	O	N	O	N
TA rétro.	O	O	O	O	O	N	O	O
Epididyme	O	O	O	O	O	N	O	O
Testicule	O	O	O	O	O	N	O	O
Ovaire	O	O	-	-	-	-	-	-

TABLEAU 23 – Organes pesés et prélevés selon le type d'euthanasie, O signifiant "oui" et N signifiant "non". épi., épидидymal; gastroc., gastrocnémien; insu., insuline; mésen., mésentérique; rétro., rétro-péritonéal; TA, tissu adipeux.

6.3.1 Décapitation

Afin d'analyser l'impact des PE sur les différents tissus, et notamment sur le fonctionnement mitochondrial, des décapitations ont été effectuées. En effet, l'anesthésie à l'isoflurane est notamment connue pour entraîner des modifications du fonctionnement de la mitochondrie (Vincenti *et al.*, 1989).

6.3.1.1 Mâles F0 et femelles F0 à F3

Des mâles de la génération F0 âgés de 19 semaines (n=27, n=34 et n=22 pour le groupe contrôle, LD et HD respectivement) ainsi que les femelles des générations F0 (n=20, n=31 et n=23 pour le groupe contrôle, LD et HD respectivement), F1 (n=12, n=14 et n=13 pour le groupe contrôle, LD et HD respectivement) et F3 (n=17, n=17 et n=16 pour le groupe contrôle, LD et HD respectivement) âgées de 19 semaines, ont été euthanasiés par décapitation (Figure 40). Pour les mâles F0, des mitochondries

de foie ont été isolées pour 10 animaux de chaque groupe afin d'étudier la chaîne respiratoire mitochondriale (voir 6.4).

6.3.1.2 Test de charges en insuline (mâles F1 à F3)

Vingt-quatre mâles âgés de 3 et 19 semaines (F1 et F3) de chaque groupe ont reçu une injection d'insuline (NovoRapid 100 E/U/mL, Novo Nordisk, Danemark; 10 mU/g de poids corporelle; n=12 par groupe) ou de NaCl 0,9 % (Lavoisier, France; n=12 par groupe) par voie intrapéritonéale afin d'analyser les voies de signalisation de l'insuline sur différents organes par mesure semi-quantitative de la phosphorylation d'AKT par western blot (voir 6.6.1). Quinze minutes après l'injection, les animaux ont été euthanasiés par décapitation. Le même lobe de foie ainsi que le gastrocnémien droit ont été échantillonnés dans des cryotubes pour les rats injectés à l'insuline. Pour 10 des 12 mâles ayant reçu une injection de NaCl, des mitochondries de foie ont également été extraites afin d'étudier la chaîne respiratoire mitochondriale (voir 6.4).

6.3.1.3 Exsanguination

Les 12 mâles âgés de 19 semaines (F0, F1, F3) et de 3 semaines (F1, F3) inclus dans les différents tests de tolérances ont été anesthésiés par anesthésie gazeuse générale en cage (3,2 % d'isoflurane et 2 L/min d'O₂) puis maintenus sous anesthésie au masque (1,6 % d'isoflurane et 1 L/min d'O₂). La cage thoracique a été ouverte afin de freeze clamber un morceau de foie (n=12 pour tous les groupes d'exposition) à l'aide d'une pince refroidie à l'azote liquide. Le foie freeze clamped a été utilisé pour des études complémentaires, notamment pour évaluer les différences de marquages des lysines 7 et 8 de l'histone H₄ effectuée par Nour Zeaiter lors de sa thèse encadrée par le Professeur Uwe Schlattner au LBFA (Grenoble, France).

Les rats ont ensuite été euthanasiés par exsanguination par prélèvement sur la veine abdominale à l'aide d'une aiguille rincée à l'héparine 5 UI. Le sang a été collecté et une goutte de sang a permis de mesurer la glycémie. Le sang a ensuite été transféré dans tubes d'héparine de lithium et centrifugé comme expliqué précédemment (voir 6.3). Le reste de foie ainsi que le pancréas ont été immergés dans de l'OCT

(CellPath, Etats-Unis), immergés dans de l'isopentane refroidie à l'azote puis congelés dans de l'azote liquide et conservés à -80°C. Certaines femelles (n=10 par groupes pour F0; n=8 par groupes pour F1 et F3) ont également suivi ce processus à l'âge de 19 semaines.

6.3.1.4 Perfusion intra-cardiaque

La fixation du cerveau pour les analyses IRM a nécessité l'exsanguination par perfusion intracardiaque. Les mâles âgés de 20 semaines des générations F0 (n=8, n=8 et n=10 pour les groupes contrôles, LD et HD respectivement), F1 (n=8 pour l'ensemble des groupes) et F3 (n=8 pour l'ensemble des groupes), ainsi que des mâles de 4 semaines des générations F1 (n=8, n=7 et n=8 pour les groupes contrôles, LD et HD respectivement) et F3 (n=8 pour l'ensemble des groupes), ayant effectué des tests comportementaux ont été anesthésiés par injection intra-péritonéale de pentobarbital (150 mg/kg). La cage thoracique a été ouverte afin d'accéder au cœur et d'introduire dans le ventricule gauche un cathéter relié à une pompe péristaltique. La pompe a délivré une solution de NaCl 0,9 % (5mL/min) puis une incision de l'oreillette droite a été effectuée afin de laisser s'évacuer le sang et les solutions perfusées. Une fois les 50 mL de NaCl perfusés, 150 mL d'un mélange glacé de paraformaldéhyde 4 % et de 6,25 mM de Dotarem 0,5 mmol/mg (Guerbet, France), utilisé en tant que produit de contraste nécessaire à la visualisation des différentes structures cérébrales, a été perfusé. Une fois la perfusion terminée, les rats ont été guillotins. Afin d'obtenir des crânes contenant les cerveaux fixés, l'ensemble des tissus de peau, de muscle et tendon a été retiré. Les crânes nettoyés contenant les cerveaux fixés ont été placés dans une solution de paraformaldéhyde à 4 % pendant 4 jours. Les crânes contenant les cerveaux ont ensuite été immergés dans une solution de Fomblin (Fens, Pays Bas) pendant au moins 11 jours avant analyse IRM (voir 6.8).

6.4 Mitochondries

6.4.1 Extraction des mitochondries hépatiques

Dix mâles âgés de 19 semaines (F0, F1, F3) et de 3 semaines (F1, F3) de chaque groupe ont été euthanasiés (voir 6.3.1) et les mêmes lobes de foie ont été prélevés, pesés puis placés immédiatement dans du tampon d'isolement (saccharose 250mM, Tris Base 20mM, acide éthylène glycol-bis(β -aminoéthyl)-N,N,N',N''-tétraacétique (EGTA) 1mM, pH 7,4) à 4°C afin d'en extraire les mitochondries.

Le morceau de foie prélevé a été cisailé en petit morceau et rincé 3 fois dans le tampon d'isolement à 4°C afin d'éliminer les fragments graisseux et les hématies. Le prélèvement a ensuite été homogénéisé à l'aide d'un potter puis centrifugé à 800 g pendant 10 min à 4°C afin de séparer les mitochondries (surnageant) des noyaux et débris cellulaires (culot). Le surnageant a été récupéré puis centrifugé à 5000 g pendant 10 min à 4°C afin de concentrer les mitochondries dans le culot et les remettre en suspension, après élimination du surnageant, dans un tampon d'isolement. Cette dernière étape a été répétée une nouvelle fois et les mitochondries ont été finalement resuspendues dans un volume final de 1 à 1,5 mL de tampon selon la quantité de foie prélevée. La concentration en protéines a été mesurée par méthode "*bicinchoninic acid assay*" (BCA) dont la technique est décrite ci-après (voir 6.5.1) après dilution au 1/100^{ème}. Les mitochondries isolées ont été utilisées pour l'exploration de la respiration mitochondriale (voir 6.4.2) et la mesure de réactif oxydant (voir 6.4.3). Les mitochondries restantes ont été conservées à -80°C pour d'autres expérimentations (voir 6.6.2).

6.4.2 Exploration de la respiration des mitochondries hépatiques

La chaîne respiratoire mitochondriale utilise l'O₂ pour produire de l'ATP et maintenir le potentiel membranaire. La respiration des mitochondries hépatiques a été mesurée grâce à un oxymètre (Mitocell, Strathkelvin Instruments, Royaume-Uni) composé d'une chambre de mesure fermée hermétiquement, sous agitation constante et maintenue à 30°C. Celle-ci est composée d'une cathode en platine polarisée à -0,7 V et d'une anode en argent en contact avec une solution de KCl. L'oxygène présent

Substrats	Concentrations solutions initiales	Concentrations dans la cuve pour 1 mg/mL de mitochondrie	Références
Glutamate	1 M	5,5 mM	G1626, Merck
Malate	0,5 M	2,5 mM	M9138, Merck
Succinate	1 M	5 mM	S2378, Merck
Roténone	0,5 mM	1 μ M	R8875, Merck
Antimycine A	0,5 mM	3 μ M	A8674, Merck
Ascorbate de sodium	0,5 M	5 mM	A7631, Merck
ADP	100 mM	1 mM	A2754, Merck
Oligomycine	0,5 mg/mL	1 μ g/mL	O4876, Merck
TMPD	25 mM	1 mM	T3134, Merck
DNP	50 mM	150 μ M	D198501, Merck

TABLEAU 24 – Substrats utilisés pour l’exploration de la respiration mitochondriale hépatique par oxygraphie. ADP, adénosine diphosphate; DNP, 2,4-dinitrophénol; TMPD, N,N,N’N’-tétraméthyl-1,4-phénylènediamine.

dans la chambre est réduit au niveau de la cathode créant ainsi une différence de potentiel. Les mitochondries isolées ont été mises dans un tampon de respiration (KCl 125 mM, Tris Base 20 mM, EGTA 1 mM, pH 7,2) à raison d’1 mg/mL. Le protocole ci-dessous a été suivi pour analyser la consommation d’O₂ de la chaîne respiratoire des mitochondries hépatiques isolées. L’ensemble des concentrations ajoutées dans la cuve de l’oxymètre ainsi que les références de l’ensemble des produits sont retrouvés dans le Tableau 24.

L’ajout de glutamate malate et/ou de succinate (associé à la roténone) permet de mesurer la consommation d’oxygène de la chaîne respiratoire par activation du complexe I et/ou II; c’est l’état 2 (Figure 45). L’ajout d’ADP permet d’activer le complexe V entraînant la production d’ATP et une dépolarisation de la membrane. Afin de maintenir le potentiel membranaire, la consommation d’oxygène par la chaîne respiratoire augmente; c’est l’état 3. Enfin l’ajout d’oligomycine permet d’inhiber l’activité du complexe V et donc fait diminuer la consommation d’oxygène par la chaîne respiratoire; c’est l’état 4. Le calcul de l’état 3 divisé par l’état 4 permet de mesurer le couplage de la membrane mitochondriale, c’est à dire à savoir si la consommation d’O₂ est bien couplée à la production d’ATP.

Afin d’affiner l’analyse de la consommation d’O₂ de la chaîne respiratoire, il est possible d’analyser la respiration du complexe IV spécifiquement : l’antimycine A, un inhibiteur du complexe III, est associée à l’ascorbate et au TMPD (N,N,N’N’-tétraméthyl-1,4-phénylènediamine) qui vont permettre d’alimenter le complexe IV

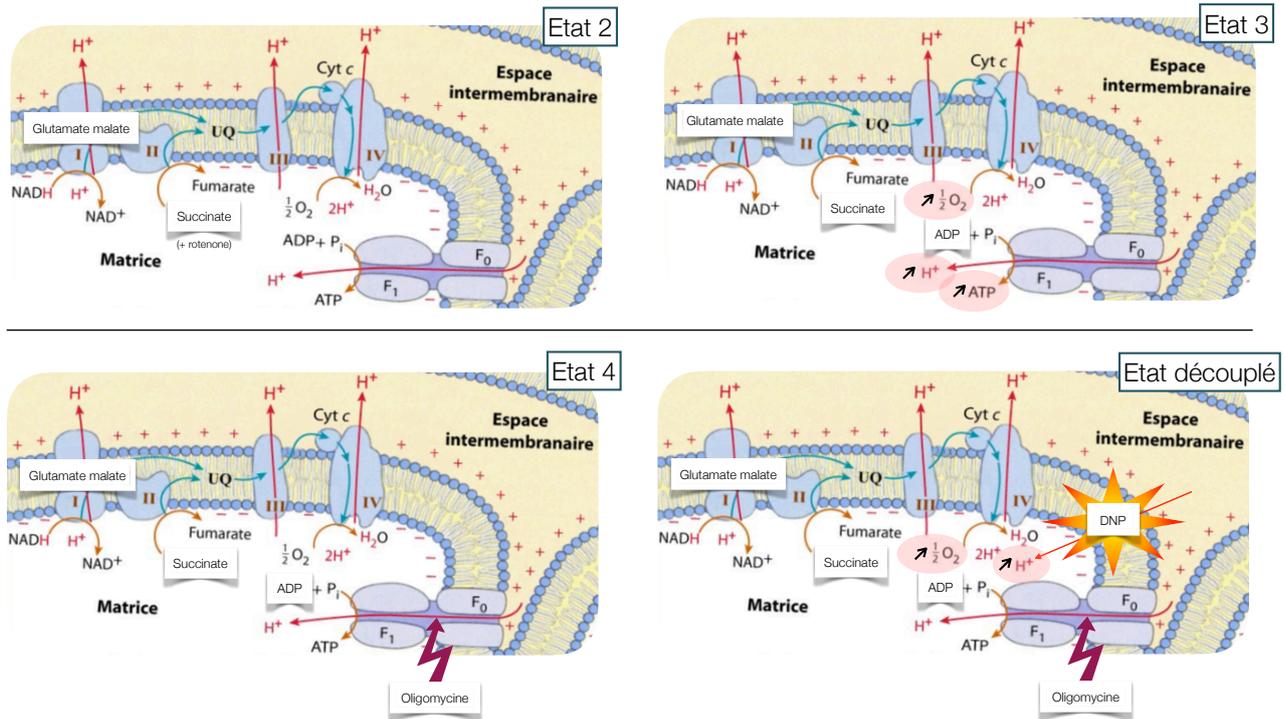


FIGURE 45 – Schéma explicatif de l'analyse de la consommation d'O₂ par les mitochondries. Le glutamate-malate et/ou le succinate vont permettre un fonctionnement normal de la chaîne respiratoire aussi appelé état 2. L'ajout d'ADP (adénosine diphosphate) va permettre d'augmenter la consommation d'O₂ et la production d'ATP (adénosine triphosphate) par la mitochondrie, aussi appelé état 3. L'oligomycine va entraîner une inhibition du complexe V ce qui va diminuer la consommation d'O₂ par la mitochondrie, aussi appelé état 4. Enfin, le DNP (2,4-dinitrophénol) permet de découpler les mitochondries et donc d'étudier la consommation maximum d'O₂. Cyt c, cytochrome c; NAD, nicotinamide adénine dinucléotide; UQ, ubiquinol.

en électron. Enfin, le DNP (2,4-dinitrophénol) va entraîner une lésion de la membrane mitochondriale entraînant donc une fuite de protons accélérée et donc une perte du potentiel membranaire. La consommation d'oxygène par la chaîne respiratoire va alors être maximale afin de rétablir le potentiel membranaire; c'est l'état découplé, c'est à dire que la consommation d'O₂ n'est plus liée à la production d'ATP par le complexe V (figure).

L'ensemble des valeurs obtenues ont été exprimées en nmol O₂/min/0,5 mg de protéines.

6.4.3 Exploration de la production de dérivés réactifs de l'oxygène par les mitochondries hépatiques

La chaîne respiratoire mitochondriale va physiologiquement entraîner une fuite d'électrons qui entraînera la création de formes réactives de l'oxygène. Cet oxygène

est délétère pour la cellule, c'est pourquoi il est rapidement transformé par la cellule en H_2O_2 , moins réactif mais tout aussi dangereux en grande quantité pour la cellule, puis est pris en charge par des enzymes antioxydantes permettant la transformation de l' H_2O_2 en H_2O et O_2 . La production de dérivés réactifs de l'oxygène (ROS) par les mitochondries hépatiques a été mesurée dans une cuve sous agitation à 30°C par fluorimétrie (F-2500, Hitachi, Japon) grâce à la production d' H_2O_2 par les mitochondries. Le suivi cette production a été fait grâce à la réaction de l' H_2O_2 avec l'Amplex Red ($\lambda_{excitation} = 560 \text{ nm}$, $\lambda_{émission} = 584 \text{ nm}$) en présence de peroxydase de raifort. Les mitochondries isolées ont été mises dans un tampon KCl, BSA 15 % (pour *bovin serum albumin*) à raison de 0,5 mg/mL. Le protocole ci-dessous a été suivi pour analyser la production de ROS par les différents complexes. L'ensemble des concentrations ajoutées dans la cuve ainsi que les références de l'ensemble des produits sont retrouvés dans le Tableau 25.

Substrats	Concentrations solutions initiales	Concentrations dans la cuve pour 0,5 mg/mL de mitochondrie	Références
Amplex Red®	1 mM	2 μM	A12222, Invitrogen
HRP	5 000 U/mL	10 U/mL	P8250, Merck
Glutamate	1 M	5 mM	G1626, Merck
Malate	0,5 M	2,5 mM	M9138, Merck
Succinate	1 M	5 mM	S2378, Merck
Roténone	0,5 mM	1 μM	R8875, Merck
Antimycine A	0,5 mM	0,5 μM	A8674, Merck

TABLEAU 25 – Substrats utilisés pour l'exploration de la production de dérivés réactifs de l'oxygène par les mitochondries hépatiques. HRP, peroxydase de raifort.

Le glutamate malate est un substrat du complexe I qui permet le transfert des électrons le long de la chaîne respiratoire et entraînant une légère fuite d'électrons au niveau du complexe III (Figure 46). L'ajout de roténone va inhiber spécifiquement le complexe I entraînant une grosse fuite d'électrons au niveau de ce complexe. L'ajout de l'antimycine A va entraîner une inhibition spécifique du complexe III, permettant une sortie supplémentaire d'électrons au niveau de ce complexe. Le succinate est un substrat du complexe II qui permet le transfert des électrons le long de la chaîne respiratoire et d'entraîner une légère fuite d'électrons au niveau du complexe III et du complexe I par "flux reverse". L'ajout de roténone va entraîner une inhibition

de la sortie d'électrons au niveau du complexe I par inhibition spécifique de celui-ci. Seule une légère fuite des électrons au niveau du complexe III va être mesurée. Cette fuite va être potentialisée par l'ajout d'antimycine A par inhibition spécifique du complexe III. Le calcul de la fuite des électrons par "flux reverse" uniquement, peut être calculé après soustraction de la production d' H_2O_2 en présence de succinate + roténone (fuite physiologique du complexe III) à celle initialement mesurée en présence de succinate seul (fuite physiologique par le "flux reverse" + complexe III). Les valeurs obtenues ont été exprimées en pmol d' H_2O_2 /min/mg de protéines après comparaison à une pente d' H_2O_2 de concentration connue (H1009, Merck, Allemagne).

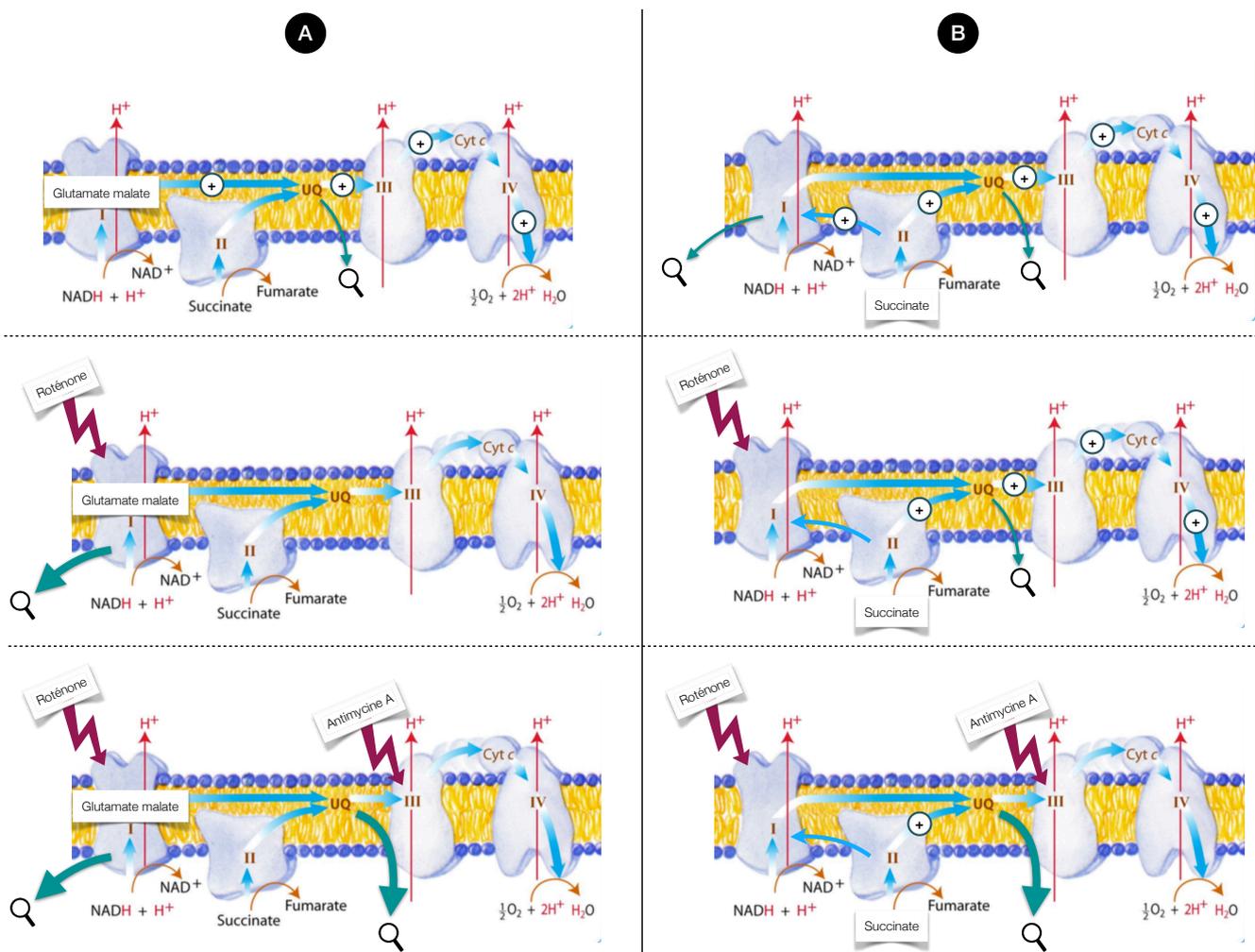


FIGURE 46 – Le flux d'électron est représenté par les flèches bleues et signalé par des "+". D'un côté, l'ajout de glutamate-malate (A) permet d'étudier une faible fuite d'électrons au niveau de l'ubiquinol (UQ) puis, après ajout de roténone, au niveau du complexe I et, enfin, au niveau de l'UQ et du complexe I après ajout d'antimycine A. De l'autre côté, l'ajout de succinate (B) permet d'étudier une faible fuite d'électrons au niveau de l'UQ et par "flux reverse" puis, après ajout de roténone, uniquement au niveau de l'UQ et, enfin, après l'ajout d'antimycine A, une forte fuite au niveau de l'UQ. Cyt c, cytochrome c; NAD, nicotinamide adénine dinucléotide.

6.5 Dosages

6.5.1 Contenu protéique

Les protéines ont été dosées par méthode BCA grâce à un kit de Pierce (ThermoFisher Scientific, Etats-Unis). Sur une microplaque (96 puits, SBS Standard), 25 μL d'échantillon et 200 μL de réactif de Pierce ont été ajoutés et incubés à 37°C pendant 30 minutes. La méthode BCA repose sur la réduction des ions Cu^{2+} en ion Cu^+ en solution par les liaisons peptidiques des protéines. L'acide bicinchoninique ajoutée va réagir avec les ions Cu^+ formant un complexe de couleur pourpre permettant une mesure de l'absorption, proportionnelle à la quantité de protéines, à 562 nm (ELX800, BioTek Instruments, Etats-Unis). Le résultat pour chaque échantillon est mesuré par comparaison à une courbe étalon de 5 standards allant de 0 à 1 mg/mL de protéine.

6.5.2 Paramètres sanguins

Les échantillons de sang des pères âgés de 19 semaines (F0, F1, F3) ainsi que des mâles âgés de 3 semaines (F1, F3) euthanasiés par décapitation et/ou test de charge NaCl, ont été envoyés pour analyse à l'unité de Biochimie et Immuno-analyse du Centre Hospitalier Universitaire Grenoble-Alpes (Grenoble, France). Différents paramètres sanguins ont été dosés grâce aux automates Atellica Solution (Siemens, Allemagne). L'ensemble des facteurs dosés ainsi que les paramètres des automates sont décrits dans le Tableau 26 ci-après.

Les dosages de l'ACTH (exprimée en pmol/L) et de la testostérone totale (exprimée en nmol/L) ont été effectués par dosage immuno-radiométrique à l'aide des trousseaux RIA B.R.A.H.M.S (ThermoFisher Scientific, Etats-Unis) et Testostérone (Cis Bio, Allemagne) respectivement. L'ACTH permet l'exploration de la fonction surrénalienne et notamment les réactions au stress. La testostérone permet d'évaluer les fonctions testiculaires chez les mâles à l'âge de 19 semaines uniquement (les taux de testostérone ont été retrouvés inférieurs aux limites de quantification pour les rats de 3 semaines).

Dosages	Unité	But du dosage	Type d'analyse	Module utilisé sur l'automate
Cholestérol total	mmol/L	Dosage des paramètres lipidiques circulants		
Triglycérides	mmol/L			
ALAT	UI/L	Dosage des paramètres hépatiques	Réaction enzymatique suivie d'une mesure spectrophotométrique	Module chimie
ASAT	UI/L			
Phosphatase alcaline	UI/L			
CPK	UI/L	Exploration du tissu musculaire		
Acide urique	$\mu\text{mol/L}$	Exploration des fonctions rénales		
Urée	mmol/L			
Créatinine	$\mu\text{mol/L}$			
Troponine I	ng/L	Exploration cardiaque	Immunodosage par chemiluminescence	Module immunoanalyse
T ₃ libre	pmol/L	Exploration des paramètres thyroïdiens		
T ₄ libre	pmol/L			

TABLEAU 26 – Dosage des différents paramètres sanguins sur automate Atellica Solution (Siemens, Allemagne). ALAT, alanine aminotransférase; ASAT, aspartate aminotransférase; CPK, créatine phosphokinase; T₃, triiodothyronine; T₄, thyroxine.

6.5.3 Insuline

6.5.3.1 Préparation des échantillons

Le plasma prélevé lors des tests de tolérance au glucose (n=8 par groupe, par âge et par génération) des mâles âgés de 19 semaines (F0, F1, F3) et de 3 semaines (F1, F3), a été utilisé pour doser l'insulinémie après un jeun de 16h par technique "enzyme-linked immunosorbent assay" (ELISA) (80-INSRTU-E01, ALPCO, Etats-Unis).

Les pancréas prélevés et pesés lors de l'euthanasie par décapitation des mâles F0 âgés de 19 semaines (n=8 par groupe) ont été broyés en entier dans une solution acide/alcool (0,18M HCl, 70 % éthanol) à 4°C à l'aide d'un polytron. Les broyats ont ensuite été mélangés sur roue à 4°C pendant une nuit (20 rpm) avant d'être soniqués 2 fois 10 secondes et remis sur roue à 4°C pendant 48h (20 rpm). Les homogénats ont été centrifugés à 150 g pendant 5 min à 4°C et le surnageant a été récupéré puis centrifugé à 3300 g pendant 20 min à 4°C. Le surnageant a été prélevé et conservé à -80°C. Les broyats ont été dilués au 20 000^{ème} dans un tampon Krebbs-Ringer bicarbonate (ou KRBH) avant le dosage de l'insuline par technique ELISA. La quantité d'insuline dosée a été réajustée en ng/mg de pancréas.

6.5.3.2 Dosage ELISA

Les puits d'une microplaque de 96 puits, tapissés d'anticorps monoclonaux spécifiques à l'insuline, ont été rempli de 25 μL d'échantillon et de 75 μL d'une solution

dite "Conjugate Buffer" contenant un anticorps de détection à l'insuline et un anticorps secondaire marqué d'une peroxydase. La microplaque a ensuite été incubée pendant 2h à température ambiante sur un mélangeur (700-900 rpm). Cent microlitres d'une solution de 3,3',5,5'-tétraméthylbenzidine (TMB) ont été ajoutés après 6 rinçages de la microplaque par une solution de "Wash Buffer". La microplaque a été de nouveau incubée 30 min à température ambiante sur un mélangeur (700-900 rpm). L'action de la peroxydase sur le TMB donne une coloration vert-bleu et est stoppée par une solution acide, dite "Stop Solution", donnant alors une coloration jaune au TMB oxydé. L'absorbance, proportionnelle à la quantité d'insuline dans le puits, a été mesurée à 450 nm (Clariostar, BMG Labtech, Allemagne) et comparée à une gamme étalon d'insuline allant de 0 à 5,5 ng/mL.

6.5.4 Glycogène tissulaire

Trente à 40 mg de foies et de muscles plantaires, prélevés lors des euthanasies par décapitation de mâles âgés de 19 semaines (F0, F1, F3), ont été broyés aux billes pendant 30 secondes à 30 Hz (n=8 par groupe) dans 600 à 800 μL d' H_2O pure. Les homogénats ont été chauffés à 95°C au bain-marie pendant 10 minutes afin d'inactiver les enzymes, puis centrifugés à 14 000 g pendant 10 min à 4°C avant de récupérer le surnageant conservé à -80°C jusqu'au dosage du glycogène tissulaire.

Un kit de dosage par colorimétrie (ab169558, Abcam, Royaume-Uni) a été utilisé. Les homogénats de foie et de muscles plantaires ont été dilués au 1/20^{ème} et au 1/2^{ème} respectivement dans un tampon d'hydrolyse du glycogène avant dosage. Sur une microplaque (96 puits, SBS Standard), 50 μL d'échantillons ont été déposés ainsi que 2 μL /puits d'un mix d'enzyme permettant l'hydrolyse du glycogène en glucose. La microplaque a été incubée pendant 30 min à température ambiante sur un mélangeur de plaque (400 rpm). La révélation a été faite après ajout de 50 μL d'une solution de "Reaction Mix" et incubation pendant 30 min à température ambiante sur un mélangeur de plaque (400 rpm). L'absorbance, proportionnelle à la quantité de glucose et donc indirectement de glycogène, a été mesurée à 450 nm (Clariostar, BMG Labtech, Allemagne) et comparée à une gamme étalon de glucose allant de 0 à 2 μg /puits. La quantité de glycogène dosée a ensuite été réajustée en μg /mg de tissu.

6.5.5 Lipides tissulaires

Quatre-vingt-dix à 110 mg de foies et de muscles plantaires, prélevés lors des euthanasies par décapitation de mâles âgés de 19 semaines (F0, F1, F3), ont été broyés aux billes pendant 30 secondes à 30 Hz (n=8 par groupe) dans un volume final d'1 mL d'H₂O, Nonidet P40 (NP40) 5 %. Les homogénats ont été chauffés 2 fois à 80°C au bain-marie pendant 5 minutes puis refroidis à température ambiante. Cette étape a été effectuée une nouvelle fois afin de bien solubiliser les lipides. Les tubes ont ensuite été centrifugés à 10 000 g pendant 10 min à 4°C avant de récupérer le surnageant, conservé à -80°C.

Un kit de dosage par colorimétrie (ab282924, Abcam, Royaume-Uni) a été utilisé. Les homogénats de foie et du muscle plantaire ont été dilués au 1/5^{ème} et au 1/2^{ème} respectivement dans de l'H₂O pure avant dosage. Sur une microplaque (96 puits, SBS Standard), 5 µL d'échantillons ont été déposés ainsi que 10 µL/puits d'une solution tampon et 2 µL/puits de lipase afin de convertir les lipides en glycérol. La microplaque a été incubée pendant 40 min à température ambiante sur un mélangeur de plaque (400 rpm). La révélation a été faite après ajout de 10 µL d'une solution de "Reaction Mix" et incubation pendant 1h à température ambiante sur un mélangeur de plaque (400 rpm). L'absorbance, proportionnelle à la quantité de glycérol et donc indirectement à la quantité de lipide, a été mesurée à 590 nm (Clariostar, BMG Labtech, Allemagne) et comparée à une gamme étalon de glycérol allant de 0 à 5 nmol/puits. La quantité de lipide dosée a ensuite été réajustée en nmol/mg de tissu.

6.5.6 Citrate synthase

Les lobes de foie non utilisés pour l'extraction des mitochondries et échantillonnés pour les dix mêmes mâles âgés de 19 semaines (F0, F1, F3) et de 3 semaines (F1, F3) de chaque groupe (voir 6.3.1) ont été utilisés pour définir la densité mitochondriale. Vingt à 30 mg de foie ont été broyés au 1/25^{ème} à 4°C à l'aide d'un broyeur manuel en verre dans un tampon de potassium phosphate 100 mM, éthylènediaminetétraacétique (EDTA) 10 mM, pH 7,4. Les homogénats ont été conservés à -80°C.

Afin de définir la densité mitochondriale du tissu hépatique, la citrate synthase a été mesurée par procédé colorimétrique résultant d'une réaction entre les groupes thiols (SH) de la CoA-SH, suite à l'action de la citrate synthase sur l'acétyl-CoA, et l'acide dinitrothiobenzoïque (DTNB). Le DTNB et les thiols réagissent pour donner un dianion TNB²⁻ de couleur jaune dont l'absorbance est mesurée à 412 nm. Les homogénats de foie ont été dilués dans un tampon Tris 150 mM pH 8,1 à une concentration de 8 mg/mL. Dans une cuve de spectrophotomètre, 50 µL d'homogénat dilué, 50 µL de DTNB 1 mM et 20 µL d'acétyl-CoA 5 mM ont été ajoutés à 830 µL de Tris 150 mM, Triton 0,1 %. L'absorbance a été mesurée à 412 nm (Specord 210, Analytik Jena, Allemagne) pendant 3 min à 37°C afin de mesurer l'activité non spécifique avant d'ajouter 50 µL d'oxaloacétate 10 mM. L'absorbance a été de nouveau mesurée à 412 nm pendant 3 min à 37°C afin d'obtenir une activité totale. L'activité spécifique de la citrate synthase a été calculée par la différence des pentes de l'activité totale et de l'activité non spécifique et rapportée en µmol/min/g de tissu.

6.5.7 Stress oxydant

Les morceaux de foie restant de chaque groupe (F0, F1 3 semaines et 19 semaines, F3 3 semaines et 19 semaines) ont été utilisés pour définir les marqueurs du stress oxydant hépatocellulaire. Les échantillons ont été broyés à l'aide d'un potter en verre maintenu à 4°C dans un tampon d'homogénéisation (Tris Base 10 mM, acide diéthylène triamine penta acétique (DTPA) 1mM, fluorure de phénylméthylsulfonyle (PMSF) 1mM, pH 7,4) à raison de 100 mg/mL. Les homogénats ont été centrifugés à 3000 g à 4°C pendant 10 min. Le surnageant a été aliquoté et conservé à -80°C afin de doser les thiols, les FRAP (pour "*ferric ion reducing antioxidant power*"), les TBARS (pour "*thiobarbituric acid reactive substances*") et les protéines. Le reste de surnageant a été recentrifugé à 12 000 g à 4°C pendant 20 min. Le surnageant a été aliquoté et conservé à -80°C pour dosage de la glutathion peroxydase (GPx) et des protéines. Les protéines ont été dosés par méthode BCA (voir 6.5.1).

6.5.7.1 Dosage des thiols

Le dosage des thiols (-SH) a été réalisé selon la méthode de Faure & Lafond (1995). Il permet de mesurer indirectement l'oxydation des protéines. En effet, en

présence d'espèces réactives de l'oxygène, les groupements SH sont oxydés forment des ponts disulfure S-S. Une diminution de la quantité de thiols dans un tissu indique donc une oxydation de ces groupements SH et donc la présence d'un stress oxydant dans le tissu.

Les thiols ont été dosés par procédé colorimétrique résultant d'une réaction entre les groupes SH et le DTNB. Le DTNB et les thiols réagissent pour donner un dianion TNB^{2-} de couleur jaune dont l'absorbance est mesurée à 415 nm. Pour se faire, 20 μL d'échantillon préalablement prélevé (voir 6.5.7) ou de gamme obtenue à partir d'une solution de N-acétyl-cystéine (0,125 à 0,6 mmol/L) ont été ajoutés à 50 μL de tampon phosphate (50 mM, pH8; EDTA, 1 mM) sur une microplaque (96 puits, SBS Standard). Afin de lancer la réaction colorimétrique, 20 μL de DTNB (2,5 mM; tampon phosphate 50 mM) ont été ajoutés à chaque puits. Après avoir laissé la plaque reposer pendant 15 min à l'abri de la lumière, l'absorbance, qui est proportionnelle à la quantité de thiols, a été mesurée à 415 nm (Clariostar, BMG Labtech, Allemagne) et comparée à la gamme étalon. La quantité de thiols dosée a été réajustée en $\mu\text{M/g}$ de protéine.

6.5.7.2 Dosage des FRAP

Le dosage des FRAP mesure le pouvoir anti-oxydant non enzymatique d'un tissu et a été réalisée selon la méthode de Benzie & Strain (1996). Pour cela, le fer du complexe incolore $[\text{Fe-TPTZ}_2]^{3+}$ (TPTZ pour tripyridyltriazine) en présence de l'échantillon d'intérêt, est réduit en Fe^{2+} entraînant la production du complexe coloré $[\text{Fe-TPTZ}_2]^{2+}$. L'apparition de la coloration est donc proportionnelle au pouvoir réducteur (antioxydant) de l'échantillon.

Les FRAP ont été dosés par procédé colorimétrique résultant d'une réduction du complexe $[\text{FeTPTZ}_2]^{3+}$ en $[\text{FeTPTZ}_2]^{2+}$ de couleur bleu dont l'absorbance est mesurée à 593 nm. Pour se faire, 100 μL d'échantillon préalablement prélevé (voir 6.5.7) ou de gamme obtenue à partir d'une solution de $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ (0 à 500 μM) ont été ajoutés à un tube de 900 μL de solution FRAP (TPTZ, 10 mM; FeCl_3 , 20 mM; tampon acétate, pH 3,6; conservé à 37°C). Après avoir laissé reposer pendant 4 min, l'absorbance, qui est proportionnelle à la quantité de FRAP, a été mesurée à 593 nm (Hitachi

912F, Roche, Suisse) et comparée à la gamme étalon. La quantité de FRAP dosée a été réajustée en $\mu\text{M}/\text{g}$ de protéine.

6.5.7.3 Dosage des TBARS

Le dosage des TBARS a été réalisé selon la méthode de Richard *et al.* (1992). Le principe repose sur la réaction de molécules, dont le dialdéhyde malonique (MDA) marqueur principal de l'oxydation lipidique, avec l'acide thiobarbiturique (TBA). En réagissant, ces composés vont se lier formant un complexe fluorescent dont la quantité est le reflet de la peroxydation lipidique.

Les TBARS ont été dosés par procédé fluorimétrique résultant de la liaison du TBA et du MDA. Pour se faire, $100\ \mu\text{L}$ d'échantillon préalablement prélevé (voir 6.5.7) ou de gamme obtenue à partir d'une solution de tétra-ethoxy-propane $20\ \text{mM}$ (0 à $8\ \text{mM}$) ont été ajoutés à $750\ \mu\text{L}$ de TBA ($0,55\ \text{mM}$, $\text{pH } 7,4$). Après agitation pendant 2 minutes, le mélange est incubé dans un bain-marie à 95°C pendant 1h permettant la réaction entre le MDA et le TBA. Les tubes sont ensuite placés dans la glace afin de stopper la réaction et le complexe formé est extrait par l'ajout de butanol. Après 2 minutes de repos, les tubes sont centrifugés brièvement et le surnageant est déposé sur microplaque (96 puits, SBS Standard). L'absorbance a été mesurée à une longueur d'onde d'excitation de $532\ \text{nm}$ et une longueur d'onde d'émission de $553\ \text{nm}$ (Clariostar, BMG Labtech, Allemagne) et comparée à la gamme étalon. La quantité de TBARS dosée a été réajustée en $\mu\text{M}/\text{g}$ de protéine.

6.5.7.4 Dosage de la GPx

L'activité de la GPx a été réalisée selon la méthode de Günzler *et al.* (1974). C'est une enzyme anti-oxydante qui catalyse l'oxydation du glutathion par les radicaux libres en disulfure de glutathion et molécule d'eau. Le disulfure de glutathion est ensuite réduit par l'enzyme glutathion réductase par réaction avec le NADPH, H^+ (NADP pour nicotinamide adénine dinucléotide phosphate).

L'activité a été dosée par suivi spectrophotométrique de la disparition du NADPH, H^+ à une longueur d'onde de $340\ \text{nm}$ et thermostaté à 37°C (Hitachi 912F, Roche, Suisse). Pour se faire, $20\ \mu\text{L}$ d'homogénat précédemment obtenus (voir 6.5.7) ont été utilisés, auquel ont été rajoutés $310\ \mu\text{L}$ de tampon Tris/EDTA $\text{pH } 7,6$ (Tris $50\ \text{mM}$,

EDTA 1 mM, Azide 4mM), 20 μ L de glutathion (0,15 M), 10 μ L de glutathion réductase (208 UI/mL) et 20 μ L de NADPH (8,4 mM). Au bout d'un minute, 50 μ L de ter-butyl-hydroperoxyde (30 mM) ont été ajoutés et la cinétique de la diminution de quantité de NADPH, H⁺ a été suivie à 340 nm. La pente obtenue a permis de calculer l'activité de la GPx, qui a été rapportée en UI/g de protéine.

6.6 Western blots

6.6.1 Signalisation de l'insuline

6.6.1.1 Préparation des échantillons

Pour les rats ayant été euthanasiés lors des tests de charge (voir 6.3.1.2), 8 morceaux de 40 à 60 mg de foies par groupes d'exposition et 8 morceaux de 40 à 60 mg de gastrocnémiens par groupe d'exposition ont été broyés aux billes pendant 30 secondes à 30 Hz et à 4°C au 1/10^{ème} dans une solution de RIPA+ ("*phosphate-buffered saline*" (PBS) NP40 1 %, NaDeoxycholate 0,5 %, SDS 0,1 %, EDTA 500mM, Na₃VO₄ 100mM, NaF 500 mM, dithiothréitol (DTT) 1M, inhibiteur de protéases). Les broyats ont été laissés à 4°C pendant 20 min en vortexant toutes les 10 min afin de laisser le tampon agir, puis centrifugés à 13 000 g pendant 20 min à 4°C. Le surnageant a été ensuite congelé à -80°C. Les homogénats de foies et de gastrocnémiens ont été dilués au 1/50^{ème} et au 1/20^{ème} respectivement dans de l'H₂O pure avant dosage des protéines. Les protéines ont été dosées par méthode BCA (voir 6.5.1). Les échantillons ont été dénaturés chimiquement, par l'ajout de 50 μ L de Laemelli (Blue Loading Buffer Pack, Cell Signaling Technology, Etats-Unis), et thermiquement, par passage au bain-marie à 95°C pendant 10 min. Les quantités d'échantillons dénaturés ont été calculées pour un dépôt de 10 μ L contenant 30 μ g de protéines. Un pool des échantillons NaCl et insuline par tissu (foie ou gastrocnémien), par génération (F1 ou F3) et par âge (3 ou 19 semaines) a été fait et les échantillons dénaturés ont été conservés à -20°C.

Protéines ciblées	Poids moléculaire attendu (kDa)	Dilution de l'anticorps	Origine	Référence
AKT	60	1 :1 000	Lapin	9272S, Cell Signaling
AKT phosphorylé	60	1 :2 500	Lapin	4060L, Cell Signaling
Tubuline α	50	1 :1 000	Souris	T5168, Merck
Anticorps anti-rabbit	-	1 :10 000	Chèvre	111-035-003, Jackson
Anticorps anti-mouse	-	1 :10 000	Chèvre	115-035-003, Jackson

TABLEAU 27 – Anticorps primaires et secondaires utilisés pour l'exploration de la sensibilité à l'insuline par western-blot au niveau hépatique et du muscle gastrocnémien prélevés lors des tests de charges. AKT, protéine kinase B.

6.6.1.2 Migration, transfert et marquage

Les protéines ont été séparées par électrophorèse sur SDS-PAGE (pour "sodium dodecyl sulfate–polyacrylamide gel electrophoresis") grâce à des gels précoulés (4-20 %, 15 puits, 15 μ L; Bio-Rad, Etats-Unis). Pour chaque gel, 5 μ L de marqueur de poids moléculaire (Bio-Rad, Etats-Unis) a été mis dans le 1^{er} puits et le pool correspondant aux échantillons analysés a été ajouté dans le 2^{ème} et dernier puits afin d'avoir un échantillon de référence entre les différents gels. Les échantillons ont été disposés dans les puits restants. La migration a été effectuée dans un tampon de migration (Bio-Rad, Etats-Unis) pendant 1h30 à 150 V constant grâce au système Bio-Rad Mini-Protean. Les protéines séparées ont ensuite été transférées par transfert semi-sec TurboBlot Bio-Rad (2,5 A, 25 V, 7 min) sur membrane en nitrocellulose (Midi-size, Bio-Rad, Etats-Unis) trempées pendant quelques secondes dans du tampon de transfert reconstitué (Bio-Rad, Etats-Unis). La qualité du transfert a été visualisée par Rouge Ponceau (Bio-Rad, Etats-Unis). Les membranes ont été saturées pendant 1h sous agitation à température ambiante grâce à une solution de TBS, lait 5 %. Les membranes ont ensuite été laissées sous agitation une nuit à 4°C dans une solution d'anticorps primaires (Tableau 27) "tris-buffer saline" (TBS), lait 5 %. Le lendemain matin, les membranes ont été rincées 3 fois 15 minutes sous agitation et à température ambiante au TBS, Tween 0,1 %. Elles ont ensuite été incubées dans une solution d'anticorps secondaires (Tableau 27) TBS, lait 5 % sous agitation à température ambiante pendant 1h. Après incubation dans l'anticorps secondaire, les membranes ont été lavées 3 fois 20 minutes sous agitation à température ambiante au TBS, Tween 0,1 % puis révélées grâce à l'ECL (ECL Prime, Cityva, Etats-Unis) et analysées par le système ImageQuant LAS 4000 (GE Healthcare, Etats-Unis).

6.6.1.3 Analyse

Les membranes ont été conservées à 4°C dans du TBS Tween 0,1 % pour des marquages supplémentaires. Les intensités des Western-Blots ont été analysées par le logiciel ImageJ (National Institute of Health, Etats-Unis) et le rapport AKT phosphorylé (ou pAKT) / AKT a été calculé pour chaque échantillon.

6.6.1.4 Stripping

Un stripping à l'H₂O₂ a été effectué afin de marquer une seconde fois les membranes au niveau de la tubuline (Tableau 27). Les membranes ont été rincées pendant 10 min à température ambiante dans de l'H₂O puis dans l'H₂O₂ 10 % pendant 30 min. Elles ont ensuite été de nouveau lavées 3 fois dans du TBS Tween 0,1 % à température ambiante pendant 10 min avant d'être réexposées à un anticorps primaire (voir 6.6.1.2).

6.6.2 Mesures de l'expression des complexes de la chaîne respiratoire sur mitochondries isolées

6.6.2.1 Préparation des échantillons

Les mitochondries isolées (voir 6.4) ont été diluées dans de l'H₂O à une concentration de 4 mg/mL (n=8 par groupe) avant dénaturation. Les échantillons ont été dénaturés chimiquement, par l'ajout de 50 µL de Laemelli (Blue Loading Buffer Pack, Cell Signaling Technology, Etats-Unis) et thermiquement, par passage au bain-marie à 90°C pendant 5 min. Les quantités d'échantillons dénaturés ont été calculées pour un dépôt de 5µL contenant 20 µg de protéines. Un pool des échantillons par génération (F0, F1, F3) et par âge (3 ou 19 semaines) a été fait. Les échantillons dénaturés ont été conservés à -20°C.

6.6.2.2 Migration, transfert et marquage

Les protéines ont été séparées par électrophorèse sur SDS-PAGE comme expliqué précédemment (voir 6.6.1.2). Les protéines séparées ont ensuite été transférées par transfert semi-sec TurboBlot Bio-Rad (2,5A, 25V, 7 min) sur membrane en polyfluorure de vinylidène (ou PVDF) (Midi-size, Bio-Rad, Etats-Unis) après immersion

pendant quelques secondes dans de l'éthanol 96 % et un lavage pendant 1h30 au tampon de transfert (Bio-Rad, Etats-Unis).

Les membranes ont été saturées toute une nuit à 4°C dans une solution de TBS, lait 5 %. Le lendemain matin, les membranes ont été marquées pendant 2h30 à température ambiante dans une solution d'anticorps primaires OXPPOS (ab110413, Abcam, Royaume-Uni) dilué au 1 :1000 dans du TBS, lait 5 %. Les membranes ont été ensuite rincées 3 fois 15 minutes sous agitation et à température ambiante au TBS, Tween 0,1 %. Elles ont ensuite été incubées dans une solution d'anticorps secondaire anti-mouse (115-035-003, Jackson ImmunoResearch, Etats-Unis) dilué au 1 :10 000 dans du TBS, lait 5 % sous agitation à température ambiante pendant 1h. Après incubation dans l'anticorps secondaire, les membranes ont été lavées 3 fois 20 minutes sous agitation à température ambiante au TBS, Tween 0,1 % puis révélées grâce à l'ECL (ECL Prime, Cityva, Etats-Unis) et analysées par le système ImageQuant LAS 4000 (GE Healthcare, Etats-Unis).

6.6.2.3 Analyse

Les membranes ont été conservées à 4°C dans du TBS Tween 0,1 % pour des marquages supplémentaires. Les intensités des Western-Blots ont été analysés par le logiciel ImageJ (National Institute of Health, Etats-Unis). Le signal du complexe V de chaque échantillon a été analysé par rapport au signal du complexe V du pool correspondant. Les signaux des complexes I, II, III et IV de chaque échantillon ont été analysés par rapport au signal du complexe V du même échantillon.

6.7 Histologie

6.7.1 Préparation des échantillons

A l'aide des foies inclus dans l'OCT (CellPath, Etats-Unis), 3 coupes par individu de 7 μm ont été réalisées pour 8 échantillons des générations F0, F1 et F3 âgés de 19 semaines et les générations F1 et F3 âgés de 3 semaines.

Les testicules échantillonnés (voir 6.3.1) des pères de 19 semaines F0, F1 et F3 de chaque groupe ont été inclus dans de l'OCT (CellPath, Etats-Unis) (n=3 par groupe). Sept coupes de 10 μm ont été réalisées pour chaque échantillons.

L'ensemble des coupes a été faite sur lames SuperFrost (Labonord, France) à l'aide d'un cryotome (CM3050 S, Leica, Allemagne; température de la chambre = -25°C ; température du support = -15°C). Les lames ont été conservées à -80°C jusqu'à coloration.

6.7.2 Coloration hématoxyline éosine (HE)

Afin d'évaluer l'organisation tissulaire, une coloration HE a été réalisée. Un bain de 2 min dans de l'hématoxyline (VWR, Etats-Unis) a permis de colorer les noyaux via une réaction acido-basique et a été suivi par différents bains de rinçage : 30 secondes à l'eau courante puis 2 secondes dans de l'acide chlorhydrique 0,9 %. Afin de raviver les couleurs, les lames ont été plongées 30 secondes dans un bain de NH_4 2 % puis rincées pendant 30 secondes à l'eau courante. Une coloration à l'érythrosine (VWR, Etats-Unis) pendant 4 min a permis de colorer le cytoplasme par réaction acido-basique. Les lames ont ensuite été déshydratées par différents bains d'éthanol à 70 %, 95 % et 100 % de 5 secondes chacun suivi d'un bain de toluène de 5 secondes. Les lames colorées et déshydratées ont été montées par fixation de lamelles à l'aide de résine Coverquick 4000 (VWR, Etats-Unis). L'organisation tissulaire a été évaluée pour chaque lame à l'aide d'un microscope (Nikon Eclipse E600, Japon) équipé d'un appareil photo (Olympus DP70, Japon).

6.8 Imagerie par résonance magnétique (IRM)

Les IRM ont été faites sur les cerveaux extraits et fixés comme décrit précédemment (voir 6.3.1.3) au centre IRM de la plateforme IRMaGe de Grenoble sur IRM Brucker Avance III 9,4 T (Allemagne) utilisant le logiciel Paravision 7.0.0., un fourreau de gradients de 20cm et 660mT/m, 4 canaux de réceptions et des antennes volumiques et surfaciques. Des images 3D à haute résolution spatiale acquises grâce à la séquence IRM T1-FLASH (TR/TE = 50/10 msec; champ de vision FOV= $20 \times 16 \times 29 \text{ mm}^3$; matrice = $200 \times 160 \times 290$; taille voxel = $100 \times 100 \times 100 \mu\text{m}^3$) sur une période d'acquisition de 30 min 09 sec. Les régions cérébrales ont été définies par la segmentation des images IRM 3D T1w. Chaque structure cérébrale a été délimitée en utilisant le modèle et l'atlas SIGMA du cerveau de rat (Barriere *et al.*, 2019) sur

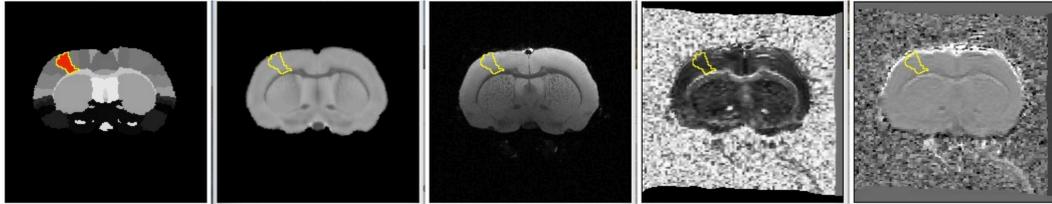


FIGURE 47 – Exemple des images obtenues pour l'analyse IRM en utilisant le logiciel ImageJ. Tout à gauche, l'atlas permet de schématiser les aires cérébrales pour chacun des cerveaux en se basant sur les données de Barriere *et al.* (2019). La zone sélectionnée (ici le cortex gauche de l'aire somatosensorielle des membres antérieurs) est entourée de jaune sur chacune des images et il est possible de parcourir les coupes afin d'explorer totalement l'aire détournée.

l'orientation coronale des images en utilisant le logiciel ImageJ (National Institute of Health, Etats-Unis). Chaque coupe a ensuite été vérifiée à la main en se basant sur l'atlas Paxinos du cerveau de rat (Paxinos, 2017). Un total de 234 structures a été identifié et analysé (Figure 47).

6.9 Séquençage ARN

Quarante mg de foie (n=10 pour chaque groupe chez les mâles F0, F1 et F3 âgés de 19 semaines) ont été placés dans un tube puis broyés à l'aide de pistons pellet autoclavés dans 2 fois 500 μL de Trizol (Invitrogen, Life Technologies, Etats-Unis). Après centrifugation à 12 000 g pendant 10 min à 4°C, le surnageant est récupéré et placé dans un nouveau tube. Après avoir laissé le surnageant pendant 5 min à température ambiante, 200 μL de chloroforme ont été ajoutés puis chaque tube a été vortexé pendant 30 secondes. Les tubes, laissés au repos pendant 3 min à température ambiante, ont ensuite été centrifugés à 12 000 g pendant 15 min à 4°C. Trois phases ont alors été obtenues : une phase supérieure contenant l'ARN ; une phase intermédiaire contenant l'ADN ; une phase inférieure contenant les composés organiques. Afin d'extraire l'ARN, la phase supérieure a été prélevée, placée dans un nouveau tube et 500 μL d'isopropanol ont été ajoutés afin de faire précipiter l'ARN. Le mélange d'ARN et d'isopropanol a ensuite été centrifugé à 12 000 g pendant 10 min à 4°C afin d'obtenir un culot d'ARN. Le surnageant a été éliminé et 0,5 mL d'éthanol 75 % a été ajouté avant centrifugation à 7500g pendant 5 minutes à 4°C. Cette étape a été répétée 3 fois. Après avoir éliminé le surnageant et laissé sécher les culots d'ARN pendant 10 min, ces derniers ont été remis en suspension dans 60 μL

d'eau exempte de désoxyribonucléase (DNase) et ribonucléase (RNase). Les culots ont été conservés à -80°C.

Le séquençage des ARN a été sous-traité à un prestataire externe (Helixio, Groupe Hybrigenics, Saint Beauzire, France). Les ARN ont été traités à la DNase grâce au kit RNase-free DNase set (Qiagen, Allemagne), puis purifiés sur colonne RNeasy Mini (Qiagen, Allemagne). Un contrôle qualité de ces ARN a ensuite été effectué grâce au Bioanalyseur 2100 (Agilent Technologies, Etats-Unis). La synthèse de l'ADN complémentaire (ADNc) a été réalisée à partir de 300 ng d'ARN totaux. Les ARNm ont été rétrotranscrits à l'aide d'une reverse transcriptase et d'amorces aléatoires puis, après dégradation de l'ARN, un deuxième brin d'ADNc a été synthétisé par une ADN polymérase. Enfin, le séquençage des ADNc a été réalisé en simple lecture sur 75 pb selon un protocole "Single Read Sequencing" (Illumina, Etats-Unis) grâce au séquenceur NextSeq500 (Illumina, Etats-Unis).

Un traitement bio-informatique des ADNc séquencés via Galaxy (disponible sur <https://galaxyproject.org>) a permis l'analyse des données du séquençage. Dans un premier temps, l'outil Trimmomatic a permis d'éliminer les séquences ne répondant pas un critère de qualité défini (fenêtre de lecture de 4 paires de bases (pb) avec une qualité moyenne égale à un score de 30; longueur minimum des séquences de 70 pb; qualité minimum par base égale à un score de 25) (Bolger *et al.*, 2014). L'outil HISAT2 a ensuite permis d'aligner les séquences sur le génome de référence de "*Rattus norvegicus mRatBN7.2*" (seuil de 2 différences maximum avec la séquence de référence; taille minimum des introns de 45 pb; taille maximum des introns de 300 000 pb) (Kim *et al.*, 2015). L'outil Cufflinks (version 0.0.7) a permis d'assembler les séquences alignées puis l'outil Cuffmerge (version 0.0.6) a permis d'établir un transcriptome de référence. Pour finir, l'outil Cuffdiff (version 0.0.7) a permis de comparer statistiquement les niveaux de transcription pour chaque groupe (contrôles *versus* LD et contrôles *versus* HD) (Trapnell *et al.*, 2010).

L'étude de l'enrichissement des grandes voies cellulaires a été réalisée via l'outil de bioinformatique DAVID (Database for Annotation, Visualization and Integrated Discovery; Bioinformatics Resources 6.7) (Huang *et al.*, 2009). DAVID utilise un test de Fisher exact pour comparer le nombre de gènes différentiellement transcrits qui constituent chaque voie et le nombre total de gènes présents dans le génome

qui constituent ces voies. De plus, chaque gène significativement différentiellement transcrit a été soumis à une analyse de son implication dans le diabète et les pathologies hépatiques via Rat Genome Database (disponible sur <https://rgd.mcw.edu/>; portail "Diseases"). Une représentation sous forme de "heat-map" a été faite grâce au logiciel Multiple Experiment Viewer.

6.10 Analyses statistiques

L'ensemble des analyses statistiques a été effectué à l'aide du logiciel Prism 7.0 (GraphPad Software, Etats-Unis). Les groupes d'expositions ont été comparés au groupe contrôle. Différents tests, décrits ci-après, ont été utilisés en fonction des expériences. Pour tous les tests, une p-valeur $< 0,05$ a été considérée comme significative tandis qu'une p-valeur comprise entre $0,1 < p\text{-valeur} < 0,05$ a été considérée comme une tendance.

6.10.1 Test exact de Fisher

Les données de fertilité des femelles ont été analysées à l'aide d'un test exact de Fisher permettant l'analyse des variables qualitatives de fertilité.

6.10.2 Wilcoxon

Les données appariées du test d'appétence ont été analysées à l'aide d'un test de Wilcoxon dû à une non-normalité des données. Les groupes LD et HD ont été comparées au groupe contrôle (eau + éthanol). De la même manière, les groupes contrôle, LD et HD ont été comparés au groupe "eau".

6.10.3 ANOVA à 2 facteurs

Les données des tests de tolérance au glucose et insuline ainsi que les données comportementales de l'open arena ont été analysées à l'aide d'un test ANOVA à 2 facteurs (les facteurs sont ici le temps et le type d'exposition). Le test ANOVA à 2 facteurs a été réalisé après vérification de la normalité et de l'homogénéité des variances grâce au test de Shapiro-Wilk et de Bartlett respectivement.

6.10.4 ANOVA à 1 facteur ou Kruskal-Wallis

L'ensemble des données restantes ont été analysées par un test paramétrique ANOVA à 1 facteur (le facteur ici étant l'exposition) ou par un test non paramétrique de Kruskal-Wallis. Le test nécessaire à l'analyse des données a été choisi selon la Figure 48.

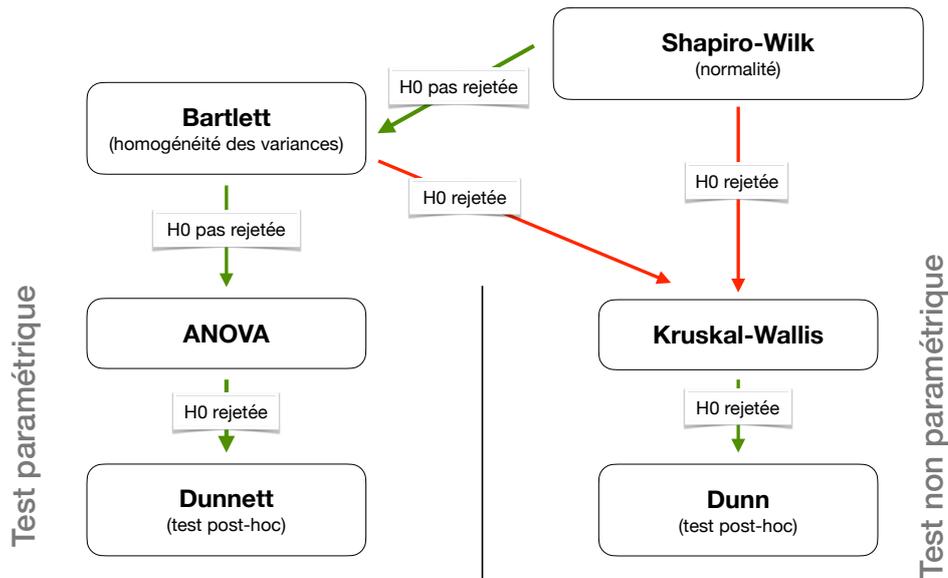


FIGURE 48 – Arbre décisionnel de l'analyse statistique par test ANOVA ou test Kruskal-Wallis. Pour chaque test, une hypothèse initiale (H_0) est testée. Selon son rejet (p -valeur $< 0,05$), le test est orienté d'un côté ou de l'autre. Le test paramétrique ANOVA nécessite aussi bien une validation de la normalité des données ainsi qu'une homogénéité des variances.

Troisième partie

Métabolisme énergétique

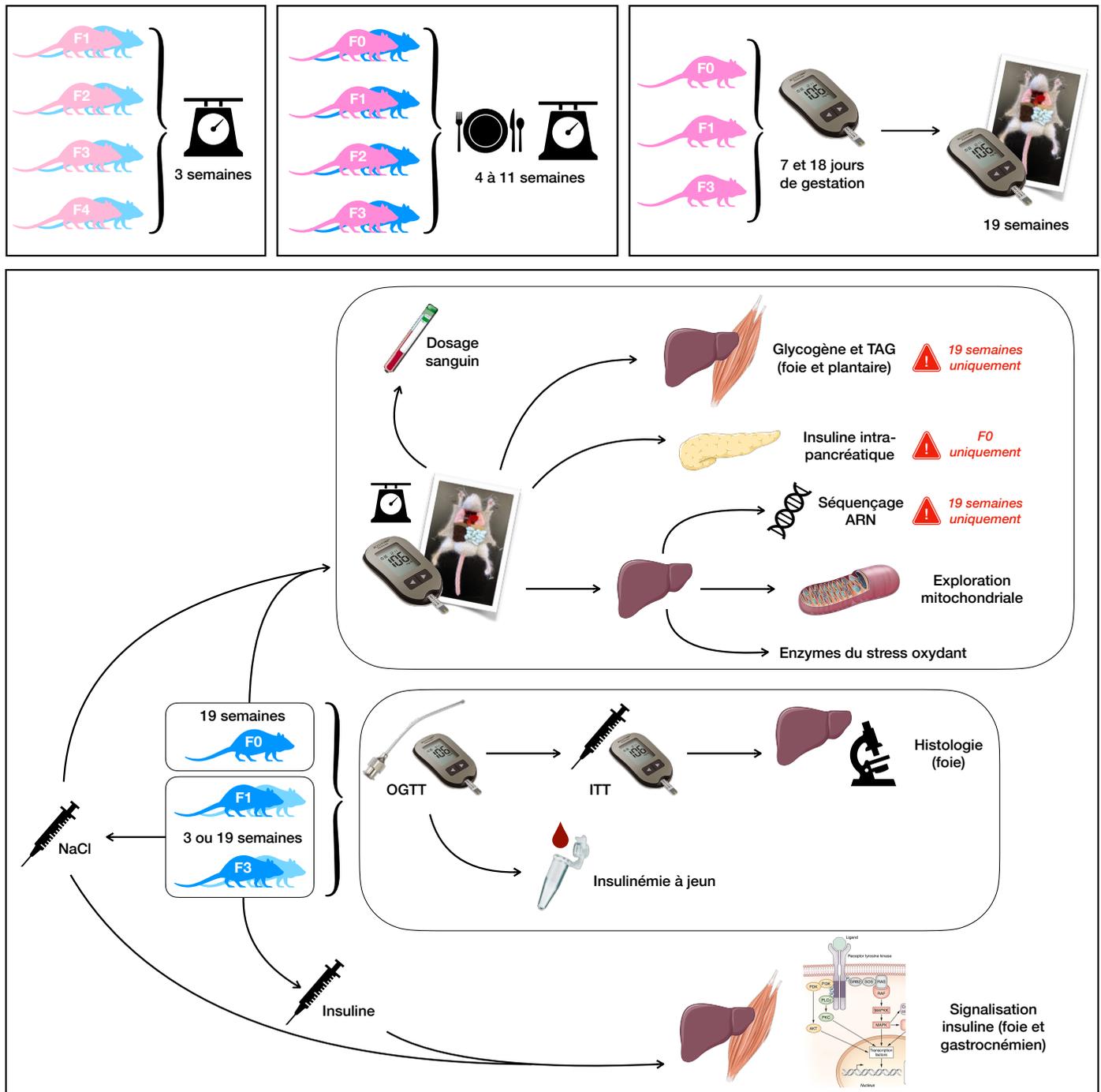


FIGURE 49 – Rappel des méthodes d’exploration du métabolisme énergétique pour les mâles et femelles des différentes générations et des différents âges. ITT, “insulin tolerance test”; OGTT, “oral glucose tolerance test”; TAG, triglycérides.

Chapitre 7

Métabolisme énergétique - Résultats

7.1 Impacts des PE sur la prise de poids et la prise alimentaire

7.1.1 Chez les femelles

De manière générale, la prise de poids des femelles F0 n'est pas modifiée, seule une augmentation significative est observée en semaine 4 pour les femelles F0 HD et en semaine 7 pour les femelles F0 LD (Figure 50). De même, la prise alimentaire n'est pas modifiée pour les groupes exposés par rapport au groupe contrôle, seule une augmentation puis une diminution significative sont observées aux semaines 6 et 7 respectivement pour les F0 LD et une augmentation et diminution sont observées aux semaines 4 et 11 respectivement pour les F0 HD.

Pour les femelles de la génération F1, une augmentation significative de la prise alimentaire des femelles LD à 6 et 7 semaines est retrouvée (Figure 50). Une augmentation significative de la prise alimentaire est observée à tous les âges dès la 5^{ème} semaine pour les femelles HD. Cependant, aucune modification de la prise de poids n'est observée, excepté pour les femelles HD à 12 semaines.

Pour les femelles de la génération F2, une augmentation significative de la prise de poids est retrouvée pour le groupe HD tout au long du suivi (Figure 50). Seule une augmentation significative du poids à 5 et 7 semaines est retrouvée pour les femelles F1 du groupe LD. La prise alimentaire est cependant significativement augmentée à partir de la 8^{ème} semaine pour les LD et à partir de la 10^{ème} semaine pour le groupe HD.

Au niveau transgénérationnel, la prise de poids est retrouvée significativement

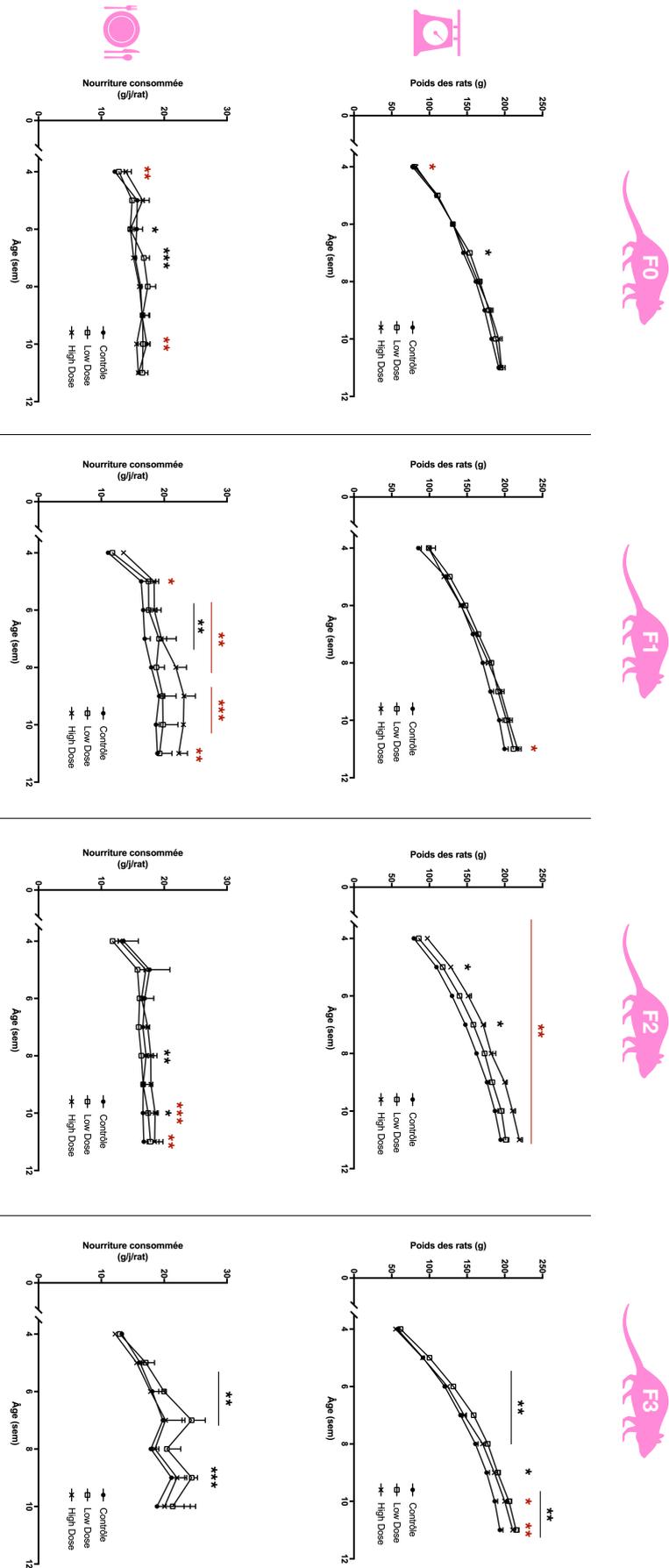


FIGURE 50 – Suivi de la prise de poids et de la prise alimentaire chez les femelles de 4 à 12 semaines pour les générations F0 (n=10 à 19), F1 (n=11 à 12), F2 (n=12 à 14) et F3 (n=13 à 14). Les données sont exprimées en moyenne \pm écart-type et comparées aux données du groupe contrôle. En noir sont exprimés les résultats statistiques contrôle *versus* "low dose" et en rouge contrôle *versus* "high dose". * p-valeur < 0,05; ** p-valeur < 0,01; *** p-valeur < 0,001.

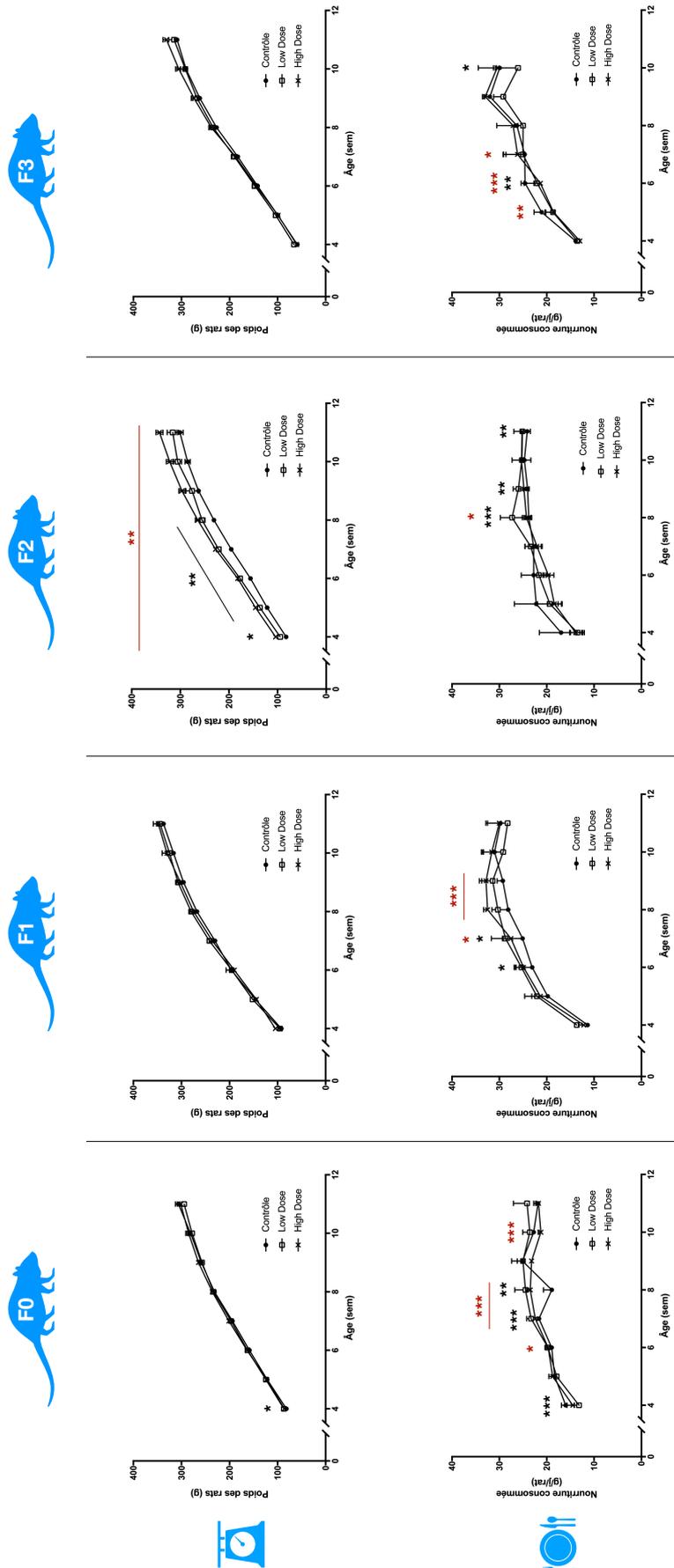


FIGURE 51 – Suivi de la prise de poids et de la prise alimentaire chez les mâles de 4 à 12 semaines pour les générations F0 (n=9 à 18), F1 (n=10 à 12) et F3 (n=13). Les données sont exprimées en moyenne \pm écart-type et comparées aux données du groupe contrôle. En noir sont exprimés les résultats statistiques contrôle *versus* "low dose" et en rouge contrôle *versus* "high dose". * p-valeur < 0,05 ; ** p-valeur < 0,01 ; *** p-valeur < 0,001.

augmentée dès la 6^{ème} semaine pour les femelles F3 LD (Figure 50). Une augmentation significative de la prise de poids est également observée pour les HD femelles F3 à partir de la 10^{ème} semaine. De plus, la prise alimentaire est significativement augmentée pour les femelles F3 LD de la 6^{ème} à la 9^{ème} semaine. Aucune modification significative de la prise alimentaire n'est retrouvée pour le groupe HD.

7.1.2 Chez les mâles

Une augmentation significative de la prise alimentaire est observée dans les premières semaines de vie (de 4 à 8 semaines) pour les F0 mâles LD, tandis qu'une augmentation significative de la prise alimentaire est observée de 6 à 11 semaines pour les F0 HD (Figure 51). Cependant, aucune différence de prise de poids n'est observée de 5 à 12 semaines.

Pour les mâles de la génération F1, une augmentation significative de la prise alimentaires des mâles du groupe LD à 6 et 7 semaines est retrouvée (Figure 51). Cette augmentation est également retrouvée pour les mâles F1 HD de la 7^{ème} à la 9^{ème} semaine. Cependant, aucune modification de la prise de poids n'est observée.

Pour les mâles de la génération F2, une augmentation significative de la prise de poids est retrouvée pour le groupe HD tout au long du suivi (Figure 51). Pour le groupe LD, une augmentation significative de la prise de poids est observée de la 4^{ème} à la 8^{ème} semaine, cependant la prise alimentaire est significativement augmentée à partir de la 8^{ème} semaine.

Au niveau transgénérationnel, aucune modification significative de la prise de poids n'est retrouvée chez les mâles F3 des groupes LD et HD, de plus une diminution significative de la prise alimentaire est retrouvée à la 6^{ème} puis 10^{ème} semaine et de la 5^{ème} à 7^{ème} semaine pour les groupes LD et HD respectivement (Figure 51).

7.2 Impacts des PE sur le métabolisme autour de la gestation

7.2.1 Impacts des PE sur la glycémie gestationnelle

Aucune modification de la glycémie à 7 et 18 jours de gestation n'est observée chez les femelles des groupes LD et HD des génération F0, F1 et F3 en comparaison aux groupes contrôles des générations respectives (Figure 52).

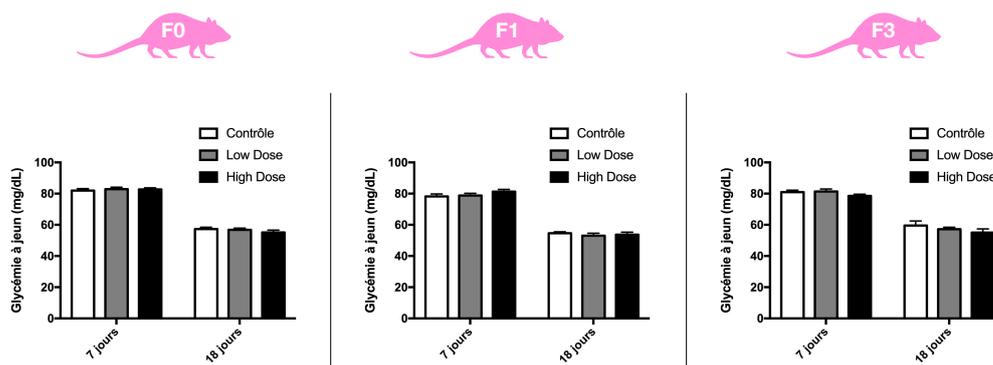


FIGURE 52 – Suivi de la glycémie à 7 et 18 jours de gestation pour les femelles des générations F0 (n=19 à 28), F1 (n=11 à 13) et F3 (n=15 à 18). Les données sont exprimées en moyenne \pm l'erreur type (SEM) et comparées aux données du groupe contrôle.

7.2.2 Impacts des PE sur la glycémie des femelles post-allaitement

A 19 semaines, aucune modification de la glycémie post-allaitement n'est observée chez les femelles F0, F1 et F3 des groupes LD et HD par rapport aux groupes contrôles des générations respectives (Figure 53).

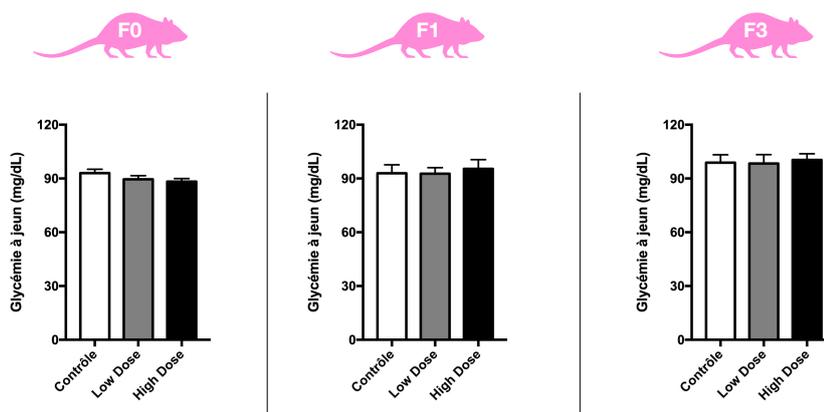


FIGURE 53 – Glycémie post-allaitement des femelles âgées de 19 semaines pour les générations F0 (n=20 à 31), F1 (n=12 à 14) et F3 (n=16 à 17). Les données sont exprimées en moyenne \pm l'erreur type (SEM) et comparées aux données du groupe contrôle.

7.2.3 Impacts des PE sur la composition corporelle *post-partum* et post-allaitement

Aucune modification du poids des mères post-partum et post-allaitement n'est observée chez les femelles F0, F1 et F3 des groupes LD et HD par rapport aux groupes contrôles des générations respectives (Figure 54).

Une diminution significative de la masse relative du foie est observée pour le groupe HD de la génération F0 ($4,2 \cdot 10^{-2}$ g/g et $3,6 \cdot 10^{-2}$ g/g en moyenne pour les

groupes contrôles et HD respectivement, p -valeur=0,01). Cet impact n'est pas retrouvé sur les générations suivantes ni sur les mères du groupe LD (Figure 55).

Aucune modification de la masse relative du pancréas n'est observée chez les femelles F0, F1 et F3 des groupes LD et HD par rapport aux groupes contrôles des générations respectives (Figure 56).

Une tendance à l'augmentation de la quantité de tissu adipeux épididymal est observée pour le groupe HD de la génération F1 ($1,6 \cdot 10^{-2}$ g/g et $2,2 \cdot 10^{-2}$ g/g en moyenne pour les groupes contrôles et HD respectivement, p -valeur=0,06). Aucune autre modification de la quantité de tissu adipeux n'est observée chez les femelles F0, F1 et F3 des groupes LD et HD par rapport aux groupes contrôles des générations respectives (Figure 57).

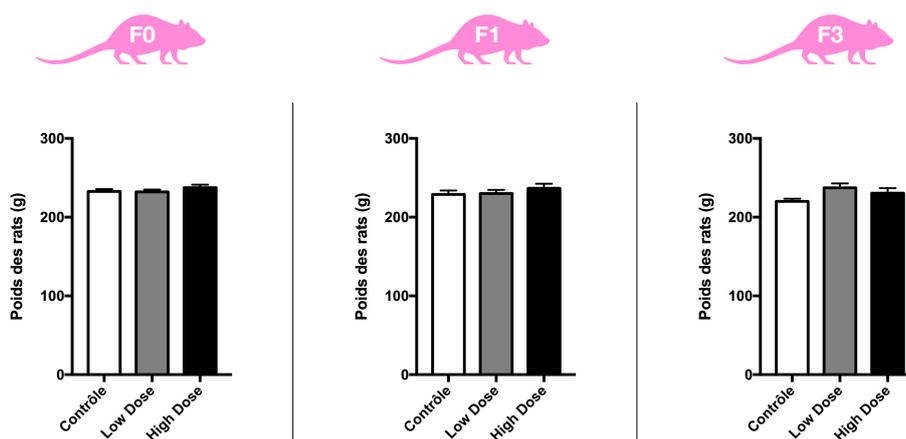


FIGURE 54 – Poids post-allaitement des femelles âgées de 19 semaines pour les générations F0 (n=20 à 31), F1 (n=12 à 14) et F3 (n=16 à 17). Les données sont exprimées en moyenne \pm l'erreur type (SEM) et comparées aux données du groupe contrôle.

Une augmentation significative de la masse relative musculaire totale de la patte droite est observée chez les femelles F0 LD par rapport au groupe contrôle ($6,2 \cdot 10^{-3}$ g/g *versus* $6,5 \cdot 10^{-3}$ g/g en moyenne, p -valeur=0,04), et plus précisément une augmentation significative de la masse relative du plantaire ($9,1 \cdot 10^{-4}$ g/g *versus* $9,7 \cdot 10^{-4}$ g/g en moyenne, p -valeur=0,003) et du soléaire droit ($3,9 \cdot 10^{-4}$ g/g *versus* $4,3 \cdot 10^{-4}$ g/g en moyenne, p -valeur=0,02). Cette augmentation de la masse relative musculaire n'est plus retrouvée pour les générations F1 et F3. Aucune modification de la masse relative musculaire n'est retrouvée pour le groupe HD (Figure 58).

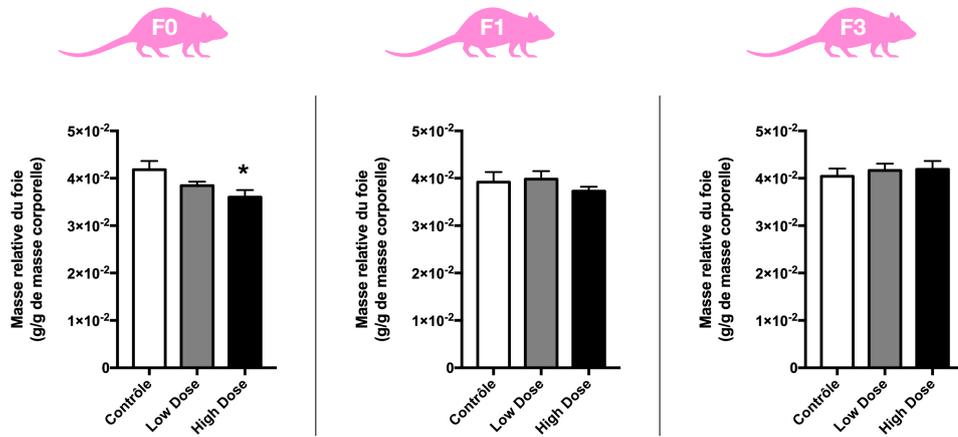


FIGURE 55 – Masse relative du foie post-allaitement des femelles âgées de 19 semaines pour les générations F0 (n=20 à 31), F1 (n=12 à 14) et F3 (n=16 à 17). Les données sont exprimées en moyenne \pm l'erreur type (SEM) et comparées aux données du groupe contrôle. * p-valeur < 0,05.

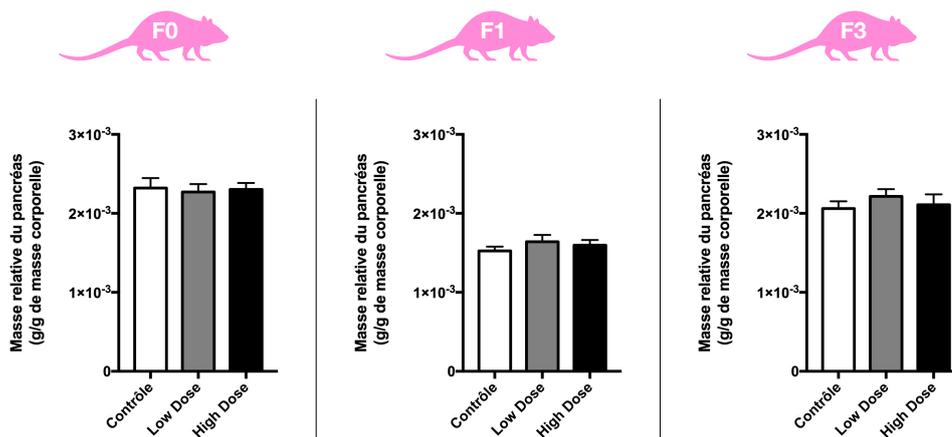


FIGURE 56 – Masse relative du pancréas post-allaitement des femelles âgées de 19 semaines pour les générations F0 (n=20 à 31), F1 (n=12 à 14) et F3 (n=16 à 17). Les données sont exprimées en moyenne \pm l'erreur type (SEM) et comparées aux données du groupe contrôle.

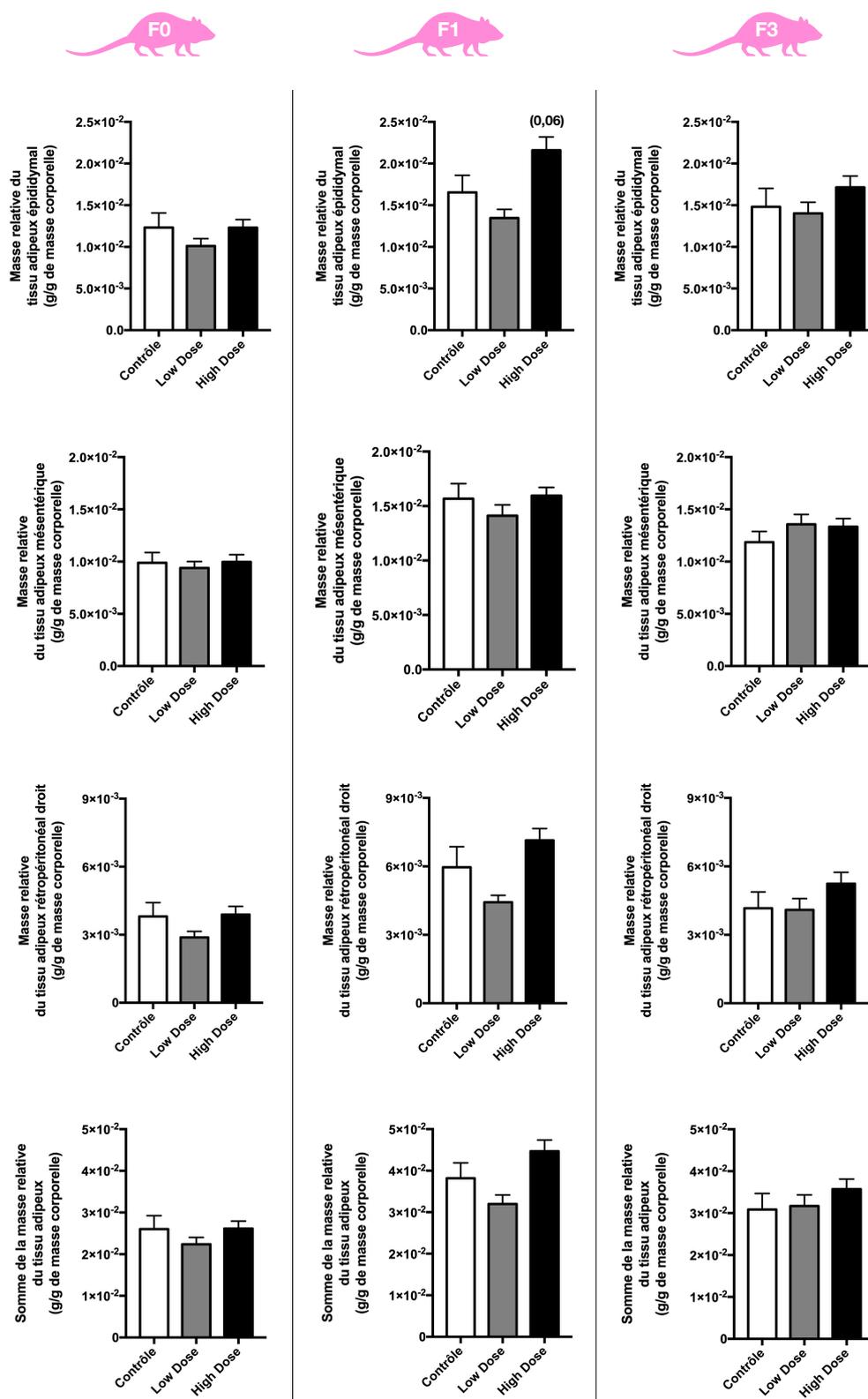


FIGURE 57 – Masse relative des différents types de tissus adipeux post-allaitement des femelles âgées de 19 semaines pour les générations F0 (n=20 à 31), F1 (n=12 à 14) et F3 (n=16 à 17). Les données sont exprimées en moyenne \pm l'erreur type (SEM) et comparées aux données du groupe contrôle. Les tendances ($0,1 < p\text{-valeur} < 0,05$) sont exprimées entre parenthèses.

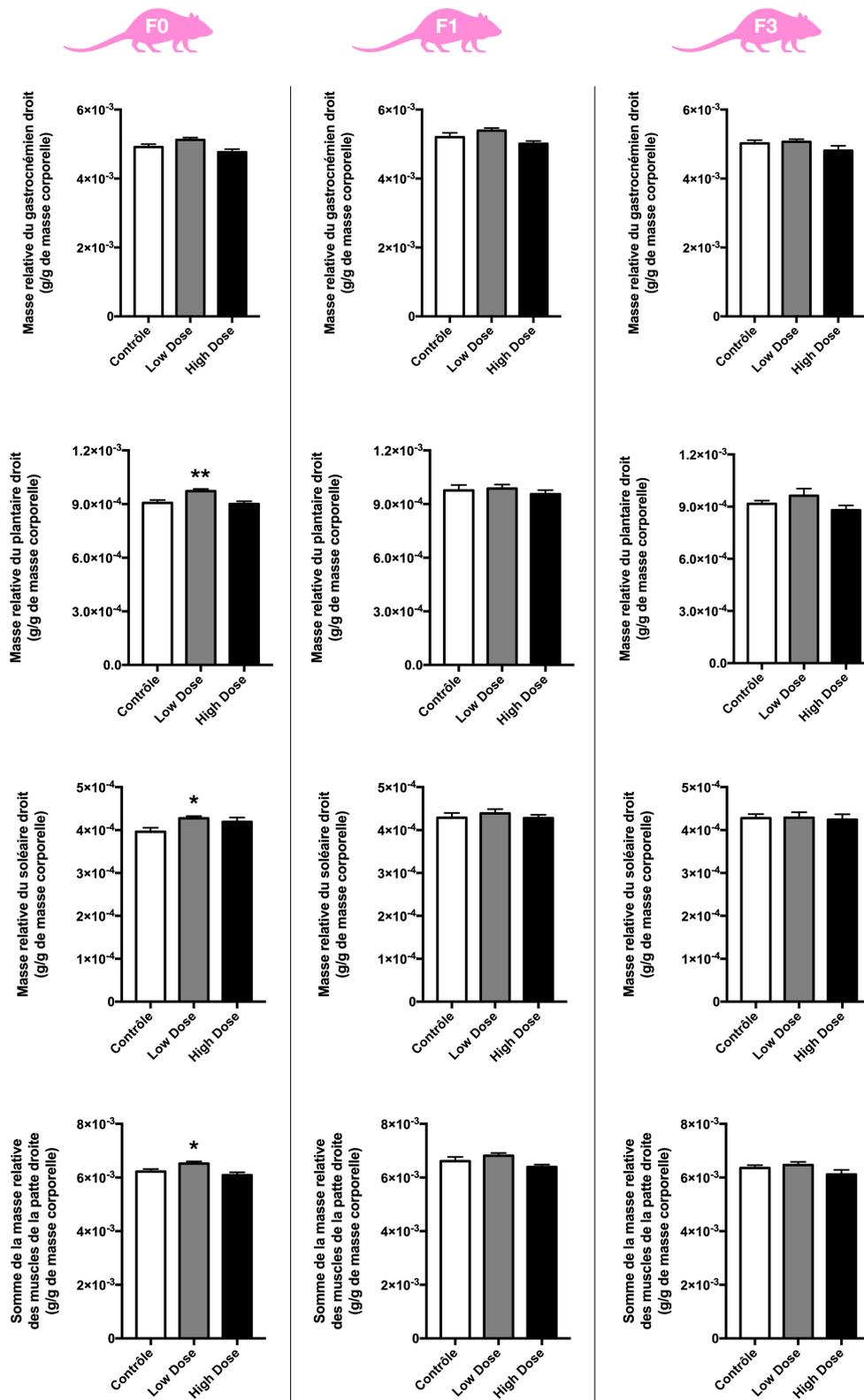


FIGURE 58 – Masse relative des muscles de la patte droite post-allaitement des femelles âgées de 19 semaines pour les générations F0 (n=20 à 31), F1 (n=12 à 14) et F3 (n=16 à 17). Les données sont exprimées en moyenne \pm l'erreur type (SEM) et comparées aux données du groupe contrôle. * p-valeur < 0,05 ; ** p-valeur < 0,01.

7.3 Impacts des PE sur le métabolisme post-allaitement

7.3.1 Impacts des PE sur le poids au moment du sevrage

Une augmentation significative du poids des rats mâles LD et HD est observée au moment du sevrage (21 jours précisément) pour les générations F1, F2, F4 et F1, F4 respectivement (Figure 59). Le poids des rats mâles F3 HD au moment du sevrage est significativement diminué par rapport au groupe contrôle.

Une augmentation significative du poids des rats femelles LD et HD est observée au moment du sevrage (21 jours précisément) pour les générations F2 et F1, F4 respectivement (Figure 60). Le poids des rats femelles F3 HD au moment du sevrage est significativement diminué par rapport au groupe contrôle.

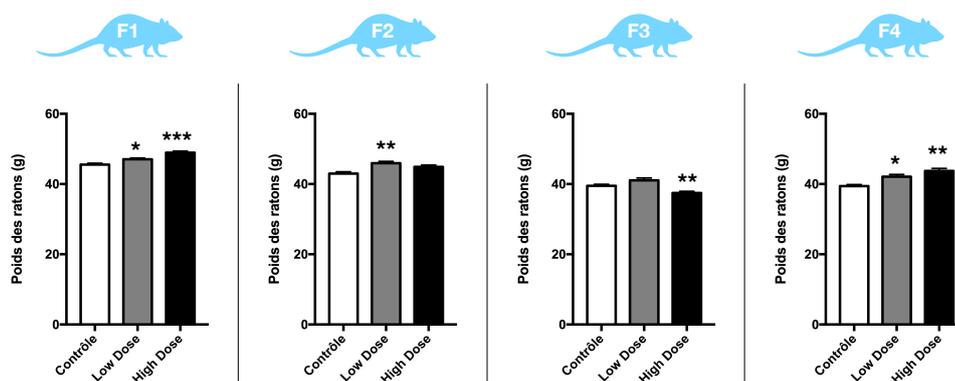


FIGURE 59 – Poids des mâles au sevrage à l'âge de 21 jours pour les générations F1 (n=104 à 148), F2 (n=49 à 67), F3 (n=124 à 144) et F4 (n=86 à 101). Les données sont exprimées en moyenne \pm l'erreur type (SEM) et comparées aux données du groupe contrôle. * p-valeur<0,05; ** p-valeur<0,01; *** p-valeur<0,001.

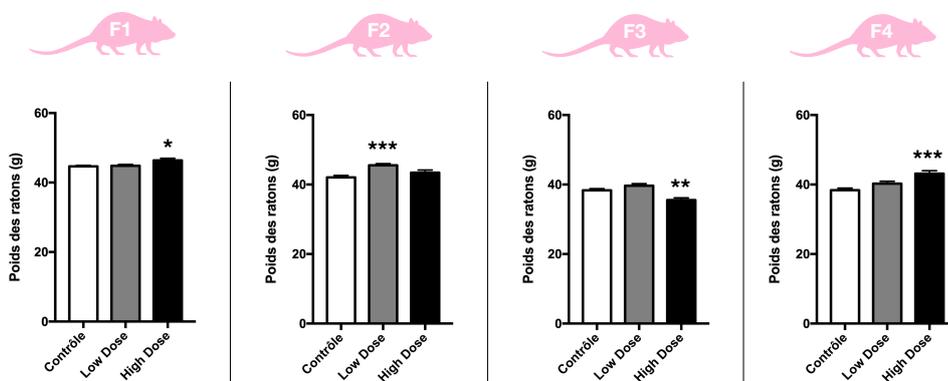


FIGURE 60 – Poids des femelles au sevrage à l'âge de 21 jours pour les générations F1 (n=93 à 150), F2 (n=56 à 71), F3 (n=98 à 135) et F4 (n=62 à 79). Les données sont exprimées en moyenne \pm l'erreur type (SEM) et comparées aux données du groupe contrôle. * p-valeur<0,05; ** p-valeur<0,01; *** p-valeur<0,001.

7.3.2 Impacts des PE sur le raton sevré

7.3.2.1 Sur la composition corporelle

Le poids des ratons mâles F1 LD post-allaitement est significativement augmenté par rapport au groupe contrôle (60 g *versus* 68 g en moyenne, p-valeur=0,01)(Figure 61). Aucune modification du poids n'est observée pour le groupe HD ni pour la génération F3.

Aucune modification de la masse relative du foie (Figure 62), du pancréas (Figure 63) et du tissu adipeux (Figure 64) n'est observée chez les ratons F1 et F3 des groupes LD et HD par rapport aux groupes contrôles des générations respectives.

Une augmentation significative de la masse relative du gastrocnémien droit est observée pour les ratons du groupe LD de la génération F1 ($4,1 \cdot 10^{-3}$ g/g *versus* $4,3 \cdot 10^{-3}$ g/g en moyenne, p-valeur=0,04) (Figure 65). Aucune autre modification de la masse relative des muscles n'est observée pour les groupes LD et HD de la génération F1 et F3, excepté une tendance à la diminution de la masse relative du soleilaire droit pour le groupe HD de la génération F3 ($4,4 \cdot 10^{-3}$ g/g *versus* $3,9 \cdot 10^{-3}$ g/g en moyenne, p-valeur=0,06).

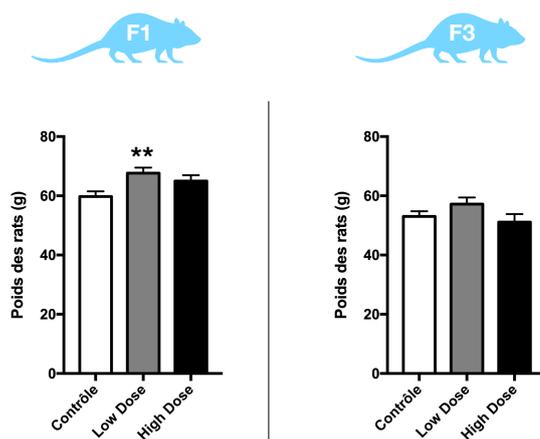


FIGURE 61 – Poids des mâles sevrés âgés de 3 semaines pour les générations F1 et F3 (n=36). Les données sont exprimées en moyenne \pm l'erreur type (SEM) et comparées aux données du groupe contrôle. ** p-valeur<0,01.

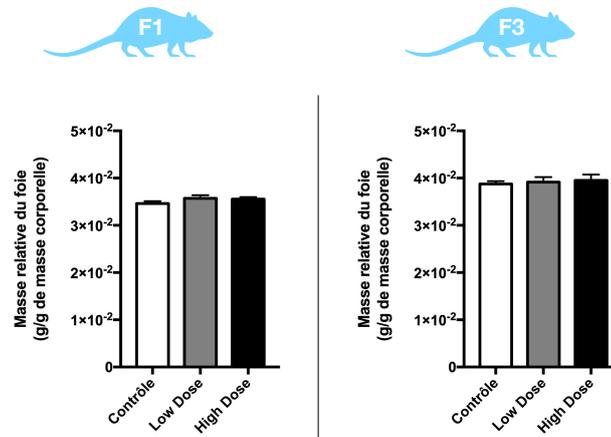


FIGURE 62 – Masse relative du foie des mâles sevrés âgés de 3 semaines pour les générations F1 et F3 (n=24). Les données sont exprimées en moyenne \pm l'erreur type (SEM) et comparées aux données du groupe contrôle.

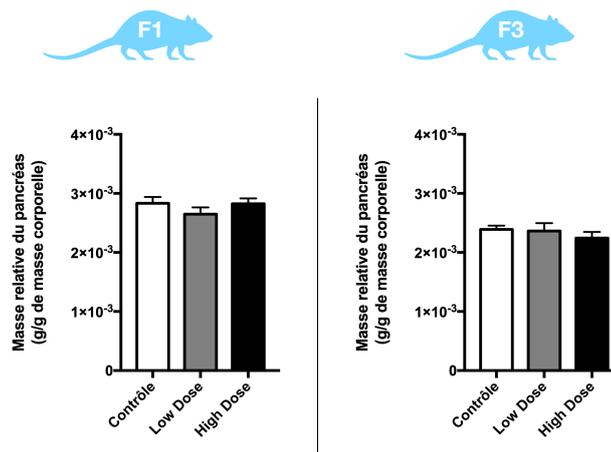


FIGURE 63 – Masse relative du pancréas des mâles sevrés âgés de 3 semaines pour les générations F1 et F3 (n=36). Les données sont exprimées en moyenne \pm l'erreur type (SEM) et comparées aux données du groupe contrôle.

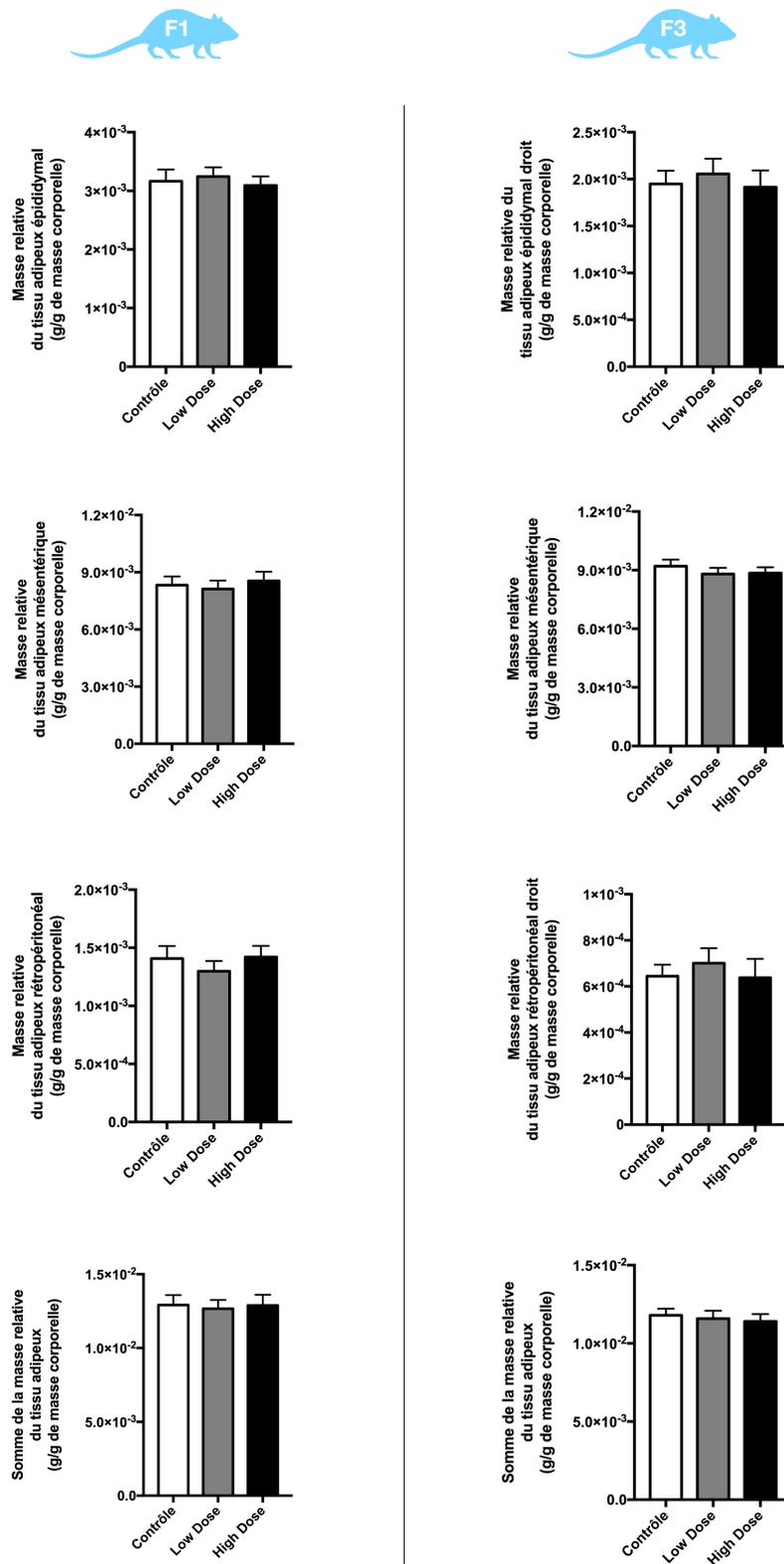


FIGURE 64 – Masse relative des différents types de tissus adipeux des mâles sevrés âgés de 3 semaines pour les générations F1 et F3 (n=36). Les données sont exprimées en moyenne \pm l'erreur type (SEM) et comparées aux données du groupe contrôle.

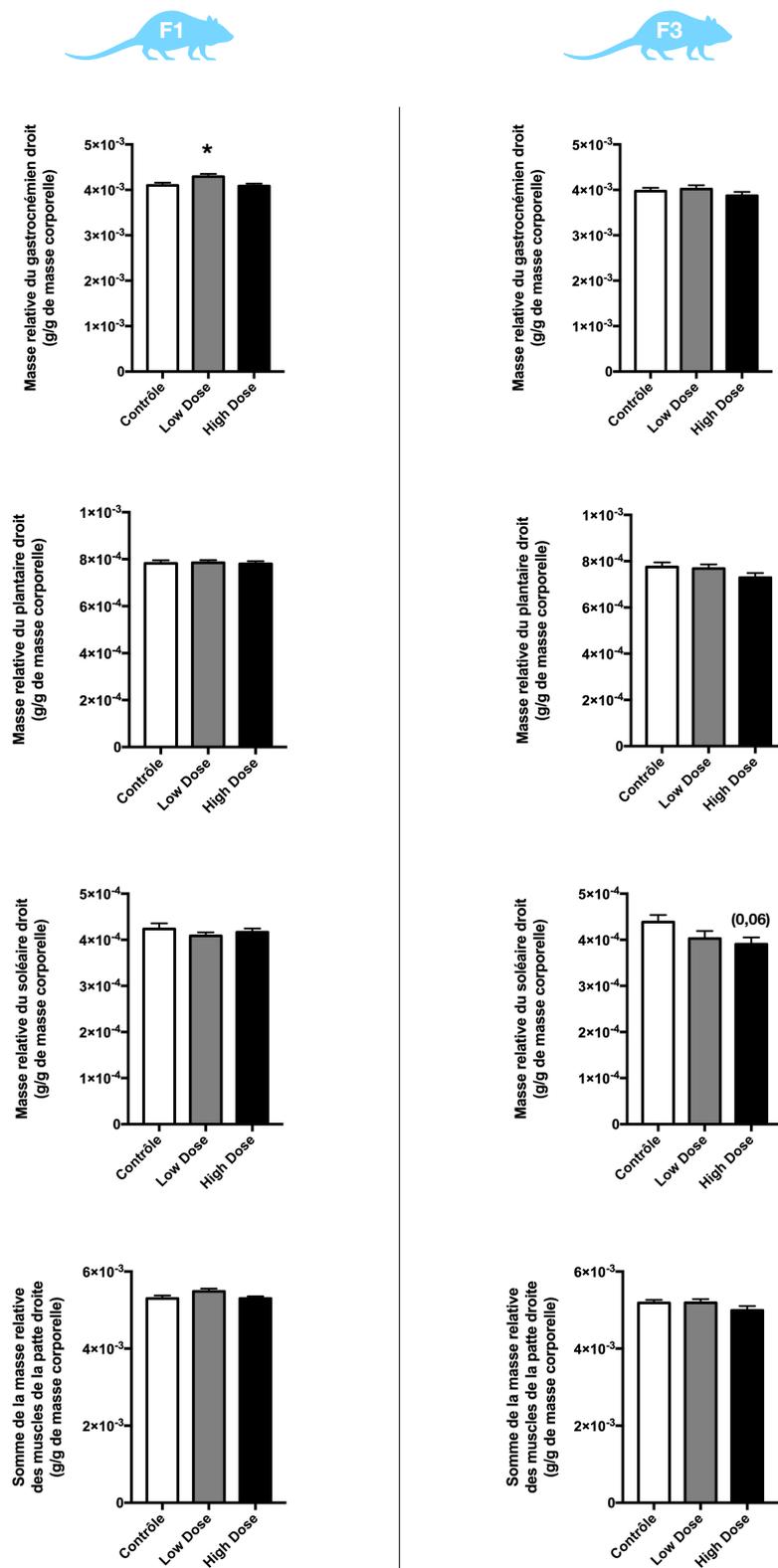


FIGURE 65 – Masse relative des muscles de la patte droite des mâles sevrés âgés de 3 semaines pour les générations F1 et F3 (n=36). Les données sont exprimées en moyenne \pm l'erreur type (SEM) et comparées aux données du groupe contrôle. Les tendances ($0,1 < p\text{-valeur} < 0,05$) sont exprimées entre parenthèses; * p-valeur $< 0,05$.

7.3.2.2 Sur les paramètres sanguins

Une augmentation significative de la cholestérolémie totale est mesurée pour les mâles F1 3 semaines LD (p-valeur=0,02) sans modification de la triglycémie (Tableau 28). Aucune modification des paramètres hépatiques n'est retrouvée pour les 2 groupes d'exposition. Le taux d'acide urique est significativement diminué pour les LD et HD (p-valeurs=0,007 et 0,004 respectivement) sans modification des autres paramètres rénaux.

Aucune modification des paramètres sanguins n'est mesurée pour les mâles F3 LD et HD âgés de 3 semaines (Tableau 29).

7.3.2.3 Sur le tissu hépatique

Pour tous les groupes de la génération F1, les tissus sont organisés avec des hépatocytes plus ou moins dessinés de teintes moyennes et possédant des noyaux de formes différentes (Figure 66). La coloration est globalement plus ou moins homogène. Une présence de noyaux glycogénés est observée chez les groupes LD et HD de manière dose dépendante (0 %, 37 % et 50 % des lames pour les groupes contrôles, LD, HD respectivement). Cependant, la quantité de noyaux glycogénés dans le tissu est plus importante pour le groupe LD. Aucun lymphocyte tissulaire n'a été observé chez le groupe LD contrairement au groupe contrôle et HD.

Au niveau transgénérationnel, pour 30 % des tissus des groupes LD et HD, le tissu est organisé avec des hépatocytes de teintes moyennes, contrairement au tissu hépatique du groupe contrôle qui est, pour la majorité des coupes histologiques, bien organisé avec des hépatocytes plus ou moins dessinés et de teintes foncées (Figure 66). Les LD possèdent des hépatocytes globalement bien dessinés (62 % des lames) contrairement au groupe HD (25 % des lames). Aucun noyaux glycogénés n'est retrouvé sauf pour le groupe HD avec une quantité faible à moyenne de ces noyaux dans les tissus. De faibles quantités de lymphocytes tissulaires sont observées chez tous les groupes (50 %, 37 % et 62 % pour les groupes contrôle, LD et HD respectivement).

♂ F1 3sem	Contrôle	Low dose	High dose
Cholestérol total (mmol/L)	1,78 ± 0,27	2,22 ± 0,48 *	1,98 ± 0,26
Triglycérides (mmol/L)	1,44 ± 0,92	1,46 ± 0,76	1,58 ± 0,62
ASAT (UI/L)	276,60 ± 83,90	266,00 ± 70,18	261,00 ± 59,82
ALAT (UI/L)	47,60 ± 13,13	50,40 ± 11,88	48,80 ± 9,46
Phosphatase alcaline (UI/L)	342,6 ± 101,37	289,50 ± 42,60	46,72 ± 46,72
CPK (UI/L)	12177,60 ± 6559,96	11021,44 ± 3356,64	10630,40 ± 3464,02
Troponine I (ng/L)	17,33 ± 6,25	20,67 ± 10,54	25,38 ± 18,88
Urée (mmol/L)	5,08 ± 1,01	4,87 ± 1,02	4,42 ± 1,04
Créatinine (μmol/L)	12,90 ± 1,73	13,30 ± 1,77	12,10 ± 1,37
Acide urique (μmol/L)	108,40 ± 16,34	83,20 ± 19,62 *	81,30 ± 17,27 **

TABLEAU 28 – Dosage des paramètres sanguins relatifs au métabolisme énergétique des mâles F1 à 3 semaines (n=10). Les données sont exprimées en moyenne ± écart-type et comparées aux données du groupe contrôle. * p-valeur<0,05; ** p-valeur<0,01. ALAT, alanine aminotransférase; ASAT, aspartate aminotransférase; CPK, créatine phosphokinase.

♂ F3 3sem	Contrôle	Low dose	High dose
Cholestérol total (mmol/L)	2,16 ± 0,31	2,21 ± 0,33	2,16 ± 0,35
Triglycérides (mmol/L)	1,19 ± 0,52	1,30 ± 0,62	0,93 ± 0,43
ASAT (UI/L)	342,00 ± 139,36	267,80 ± 82,43	288,40 ± 41,47
ALAT (UI/L)	53,50 ± 12,63	44,00 ± 10,71	48,00 ± 10,22
Phosphatase alcaline (UI/L)	337,80 ± 41,70	372,70 ± 121,33	300,00 ± 51,01
CPK (UI/L)	12974,63 ± 7149,53	11272,89 ± 5127,57	12970,63 ± 2279,03
Troponine I (ng/L)	17,00 ± 4,12	18,50 ± 3,32	22,75 ± 6,34
Urée (mmol/L)	5,55 ± 1,12	6,12 ± 1,37	5,79 ± 0,77
Créatinine (μmol/L)	11,60 ± 0,97	12,44 ± 2,01	11,89 ± 1,76
Acide urique (μmol/L)	104,30 ± 24,69	95,70 ± 21,91	96,40 ± 14,90

TABLEAU 29 – Dosage des paramètres sanguins relatifs au métabolisme énergétique des mâles F3 à 3 semaines (n=10). Les données sont exprimées en moyenne ± écart-type et comparées aux données du groupe contrôle. ALAT, alanine aminotransférase; ASAT, aspartate aminotransférase; CPK, créatine phosphokinase.

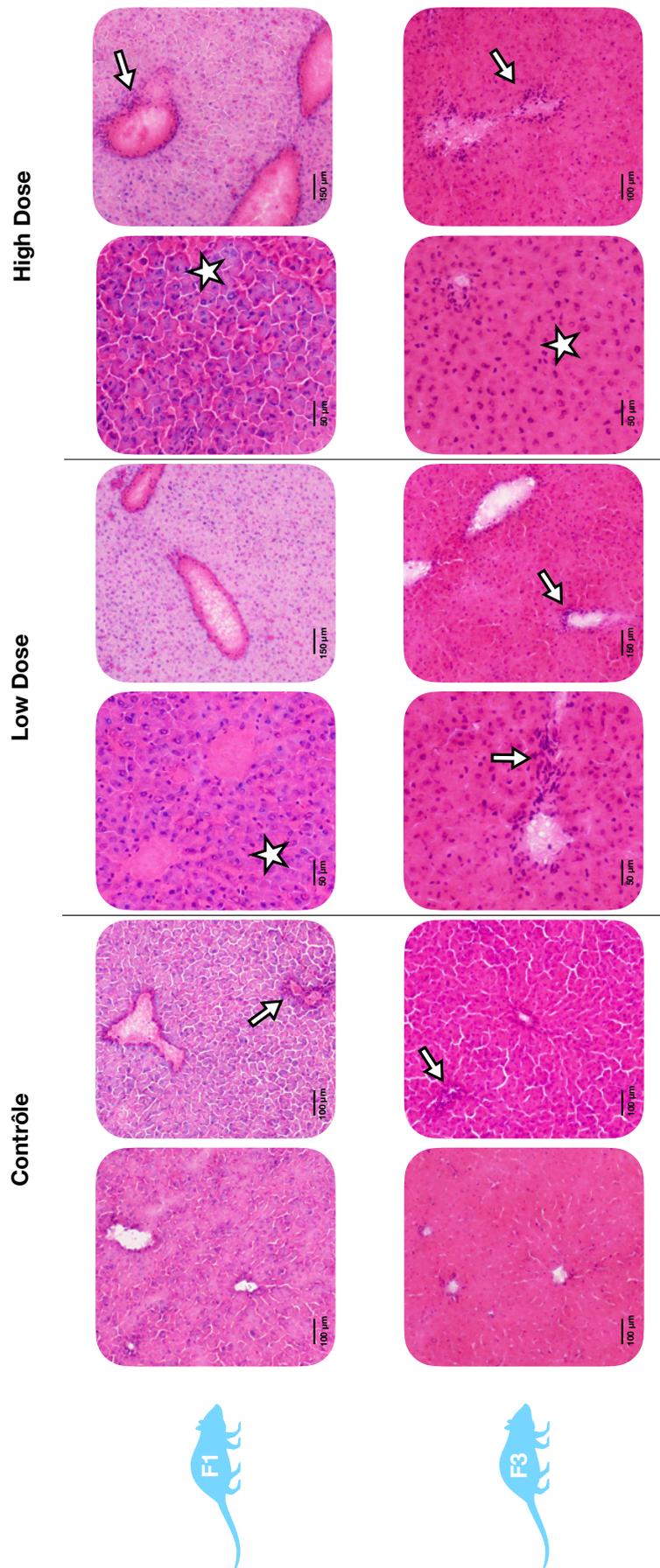


FIGURE 66 – Organisation du tissu hépatique chez les mâles âgés de 3 semaines pour les générations F1 et F3 (n=8). L'échelle est représentée en bas à gauche de chaque image. Les noyaux glycogénés sont représentés par une étoile tandis que les flèches pointent les amas inflammatoires.

7.3.2.4 Sur la gestion des substrats énergétiques

7.3.2.4.1 Test de tolérance au glucose et à l'insuline

Pour les rats de la génération F1, une augmentation significative de la glycémie dans les 20 premières minutes du test de tolérance au glucose est observée pour le groupe HD (Figure 67). L'aire sous la courbe est cependant légèrement diminuée dû à une glycémie initiale légèrement augmentée pour ce même groupe, mais de manière non significative (6351 *versus* 5387 mg/dL.120min en moyenne, p-valeur=0,4). Aucune modification de la glycémie n'est observée lors du test de tolérance à l'insuline mis à part une diminution significative de la glycémie à 5 et 10 minutes pour le groupe LD sans modification de l'aire au-dessus de la courbe.

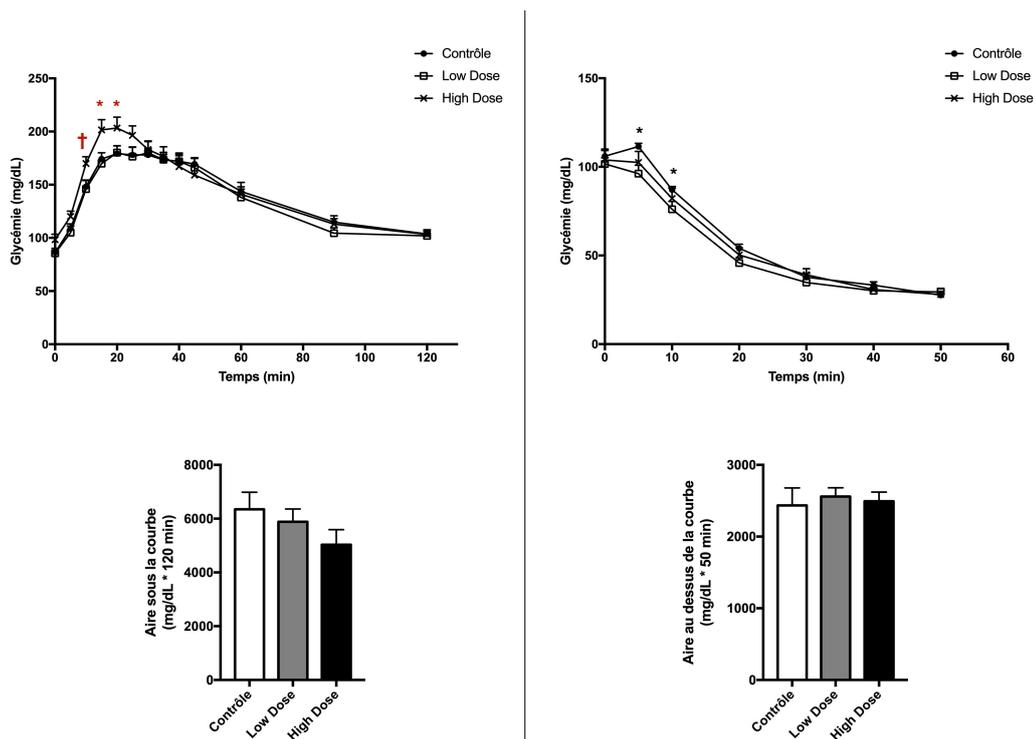


FIGURE 67 – Tests de tolérance au glucose (à gauche) et à l'insuline (à droite) ainsi que les représentations des aires sous ou au dessus de la courbe chez les mâles F1 âgés de 3 semaines (n=12). Les données sont exprimées en moyenne \pm l'erreur type (SEM) et comparées aux données du groupe contrôle. En noir sont exprimés les résultats statistiques contrôle *versus* "low dose" et en rouge contrôle *versus* "high dose". † 0,1 < p-valeur; * p-valeur < 0,05.

Pour les rats de la génération F3, une tendance à la diminution de la glycémie lors du test de tolérance au glucose est observée pour le groupe LD à 10 et 25 minutes de test, de plus, aucune modification de l'aire sous la courbe n'est observée (Figure 68). Aucune modification lors du test de tolérance à l'insuline n'est observée mis à part une augmentation de la glycémie du groupe HD à la fin du test. L'aire au-dessus de la courbe des groupes LD et HD n'est pas différente du groupe contrôle.

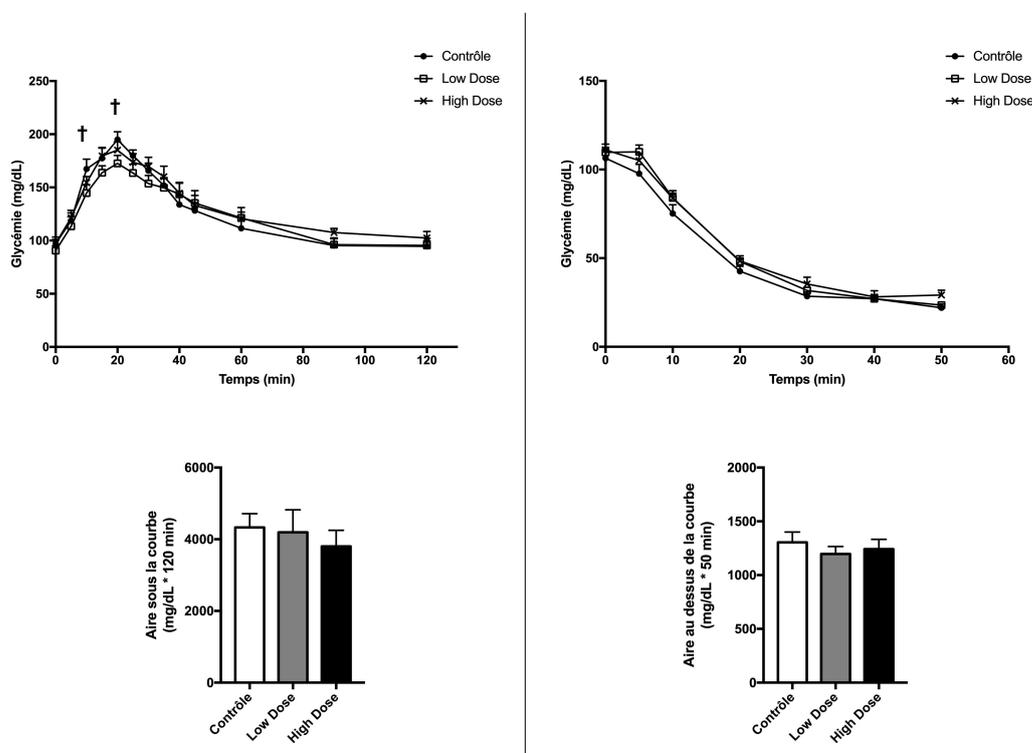


FIGURE 68 – Tests de tolérance au glucose (à gauche) et à l'insuline (à droite) ainsi que les représentations des aires sous ou au dessus de la courbe chez les mâles F3 âgés de 3 semaines (n=12). Les données sont exprimées en moyenne \pm l'erreur type (SEM) et comparées aux données du groupe contrôle. En noir sont exprimés les résultats statistiques contrôle *versus* "low dose". † 0,1 < p-valeur.

7.3.2.4.2 Glycémie et insulïnémie à jeun

La glycémie à jeun est significativement diminuée pour les rats F1 du groupe LD par rapport au groupe contrôle (96 mg/dL *versus* 87 mg/dL, p-valeur=0,05) (Figure 69). Aucune modification de la glycémie des groupes LD et HD n'est observée pour la génération F3. Aucune modification de l'insulïnémie à jeun chez les rats

F1 et F3 des groupes LD et HD n'est observée par rapport aux groupes contrôles des générations respectives.

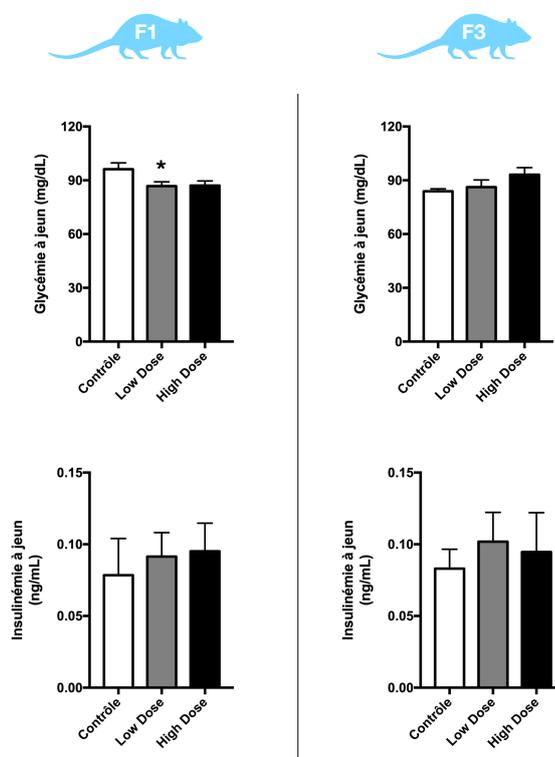


FIGURE 69 – Glycémie (n=12) et insulïnémie (n=8) à jeun des mâles âgés de 3 semaines pour les générations F1 et F3. Les données sont exprimées en moyenne \pm l'erreur type (SEM) et comparées aux données du groupe contrôle. * p-valeur < 0,05.

7.3.2.4.3 Sensibilité des récepteurs à l'insuline

Au niveau hépatique, une tendance à l'augmentation de la phosphorylation du récepteur à l'insuline est observée pour le groupe LD NaCl de la génération F1 (p-valeur=0,07) (Figure 70). Aucune autre modification de la phosphorylation d'AKT dans le tissu hépatique n'est observée pour les rats des groupes LD et HD des générations F1 et F3 par rapport aux groupes contrôles des générations respectives.

Aucune modification de la phosphorylation d'AKT dans le tissu musculaire n'est observée pour les rats des groupes LD et HD des générations F1 et F3 par rapport aux groupes contrôles des générations respectives (Figure 71).

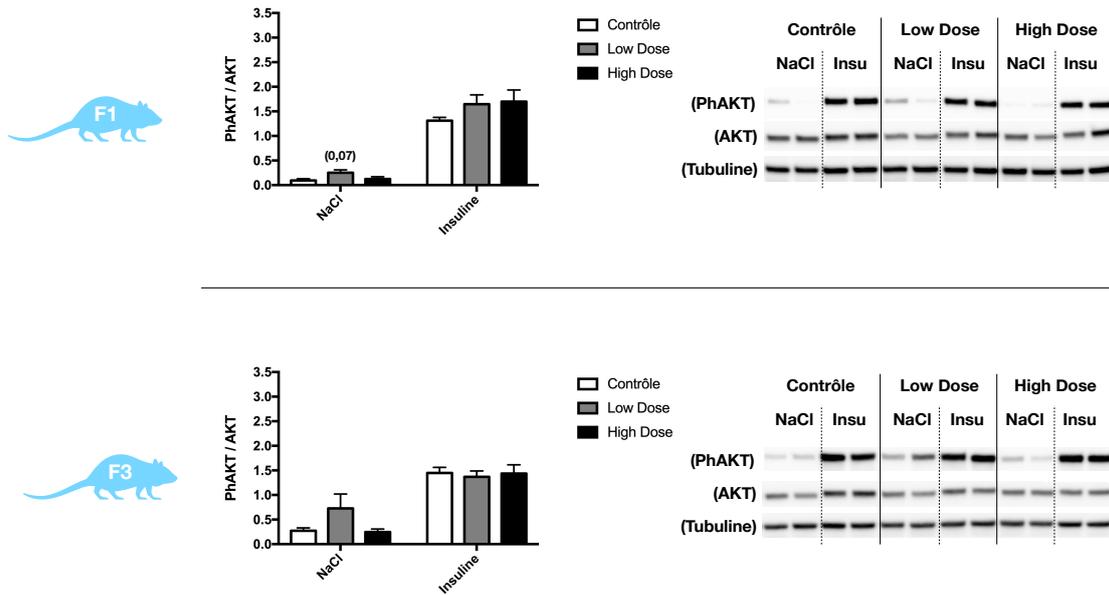


FIGURE 70 – Sensibilité des récepteurs à l’insuline du foie des mâles âgés de 3 semaines pour les générations F1 et F3 (n=8). La figure de gauche représente l’activation de l’AKT (protéine kinase B) grâce au rapport de sa forme phosphorylé sur l’AKT total. La figure de droite est une photo du marquage de l’AKT, l’AKT phosphorylé et de la tubuline par western-blot après stimulation ou non à l’insuline (Insu). Les données sont exprimées en moyenne \pm l’erreur type (SEM) et comparées aux données du groupe contrôle. Les tendances ($0,1 < p\text{-valeur} < 0,05$) sont exprimées entre parenthèses.

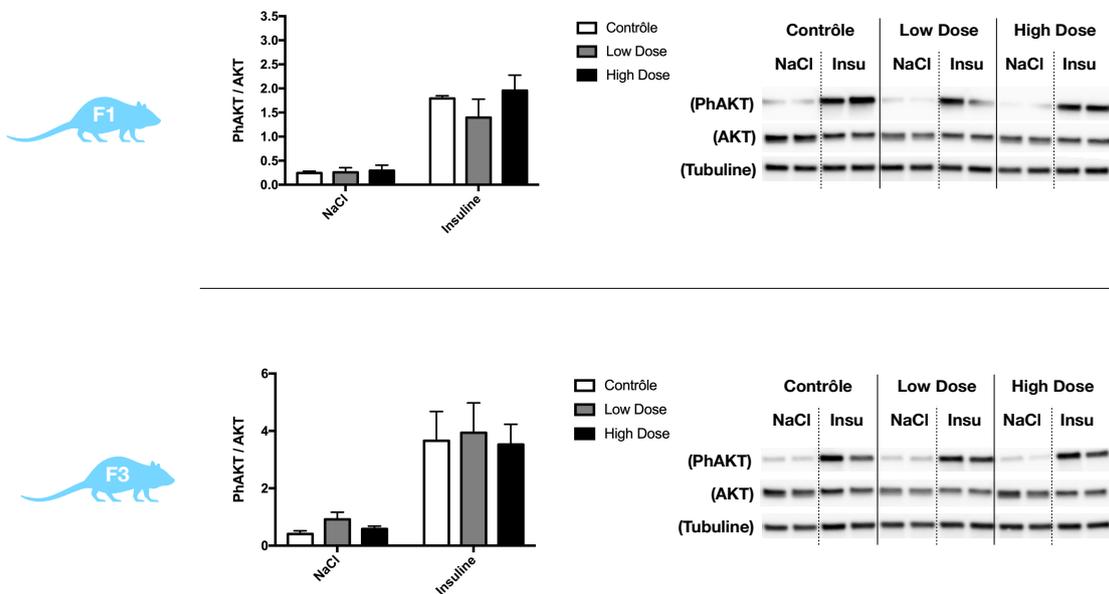


FIGURE 71 – Sensibilité des récepteurs à l’insuline du gastrocnémien des mâles âgés de 3 semaines pour les générations F1 et F3 (n=8). La figure de gauche représente l’activation de l’AKT (protéine kinase B) grâce au rapport de sa forme phosphorylé sur l’AKT total. La figure de droite est une photo du marquage de l’AKT, l’AKT phosphorylé et de la tubuline par western-blot après stimulation ou non à l’insuline (Insu). Les données sont exprimées en moyenne \pm l’erreur type (SEM) et comparées aux données du groupe contrôle.

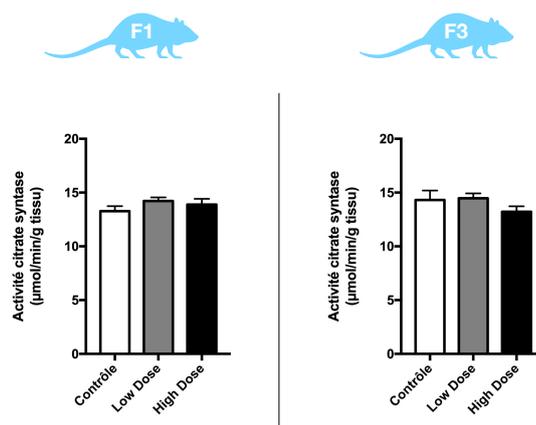


FIGURE 72 – Densité mitochondriale hépatique par mesure de l'activité de la citrate synthase des mâles âgés de 3 semaines pour les générations F1 et F3 (n=10). Les données sont exprimées en moyenne \pm l'erreur type (SEM) et comparées aux données du groupe contrôle.

7.3.2.5 Sur le fonctionnement mitochondrial hépatique et le stress oxydant

7.3.2.5.1 Densité mitochondriale

Aucune modification de la densité mitochondriale hépatique n'est observée pour les rats des groupes LD et HD des générations F1 et F3 par rapport aux groupes contrôles des générations respectives (Figure 72).

7.3.2.5.2 Respiration et production de ROS par la mitochondrie hépatique

Pour les rats de la génération F1, une augmentation significative de la consommation d'O₂ par la mitochondrie hépatique est observée pour le groupe HD à l'état 2 et 4 en présence du substrat glutamate-malate (p-valeurs=0,001 et 0,04 respectivement) (Figure 73). Cette augmentation de la consommation d'O₂ a également tendance à être retrouvée à l'état 2 (p-valeur=0,06) et est significativement augmentée à l'état 4 (p-valeur=0,03) pour le groupe LD en présence de glutamate-malate. Une tendance à un moins bon couplage des mitochondries hépatique est de plus observée pour le groupe LD en présence de glutamate-malate (p-valeur=0,08). Aucune modification de la production de ROS par la mitochondrie hépatique n'est retrouvée pour les groupes LD et HD chez les rats F1 par rapport au groupe contrôle. Seule une tendance à la diminution de la production de ROS par la fuite des électrons au niveau du complexe III est observée pour le groupe LD en présence de glutamate-malate (p-valeur=0,09).

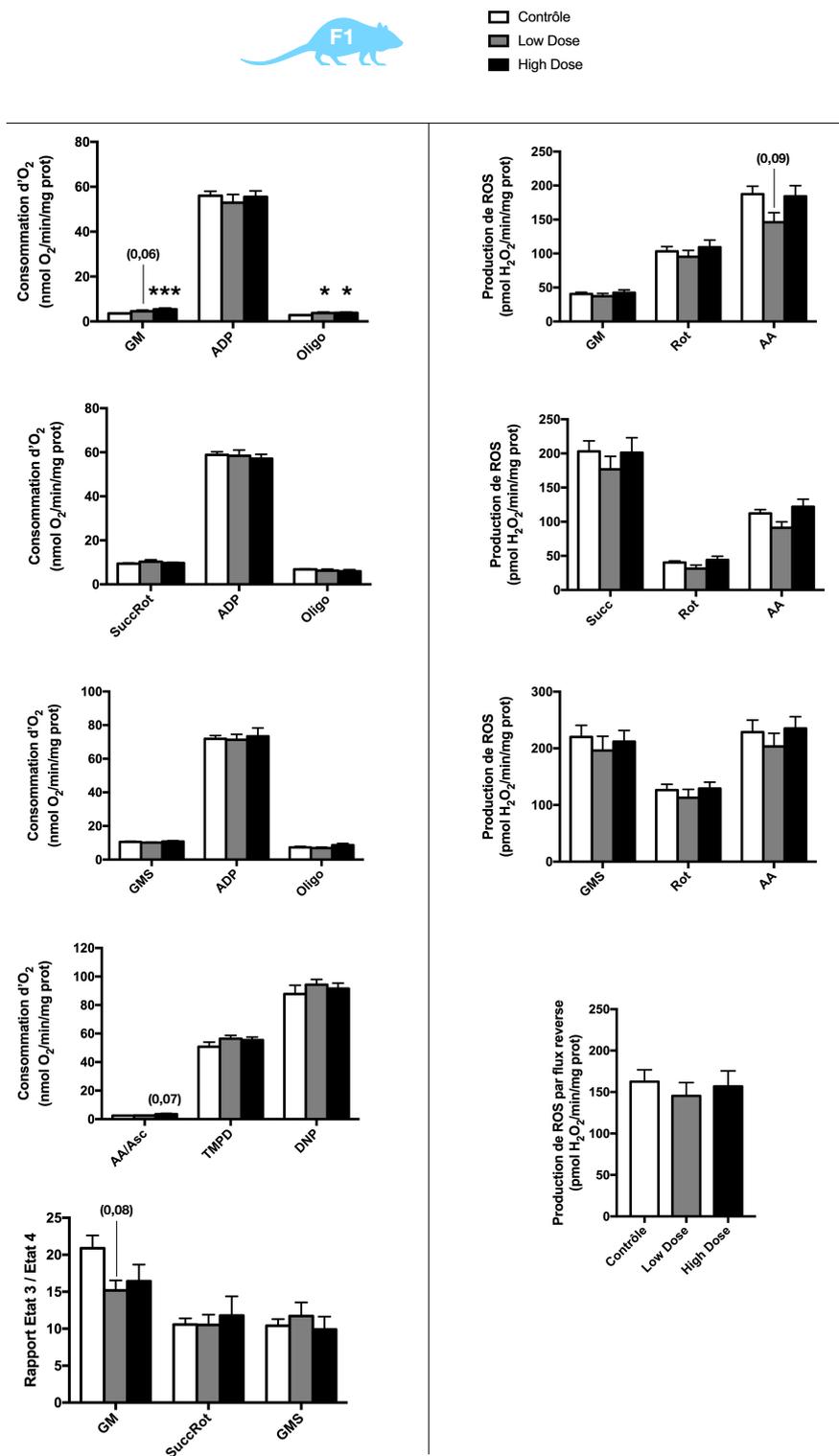


FIGURE 73 – Respiration (à gauche) et production de ROS (dérivés réactifs de l’oxygène) (à droite) par la mitochondrie hépatique des mâles F1 âgés de 3 semaines (n=10). Les données sont exprimées en moyenne \pm l’erreur type (SEM) et comparées aux données du groupe contrôle. Les tendances ($0,1 < p\text{-valeur} < 0,05$) sont exprimées entre parenthèses; * p-valeur $< 0,05$; *** p-valeur $< 0,001$. AA, antitymécine A; ADP, adénosine diphosphate; Asc, ascorbate; DNP, 2,4-dinitrophénol; GM, glutamate-malate; GMS, glutamate-malate-succinate; Oligo, oligomycine; Rot, roténone; Succ, succinate; TMPD, N,N,N,N’-tétraméthyl-1,4- phénylènediamine.

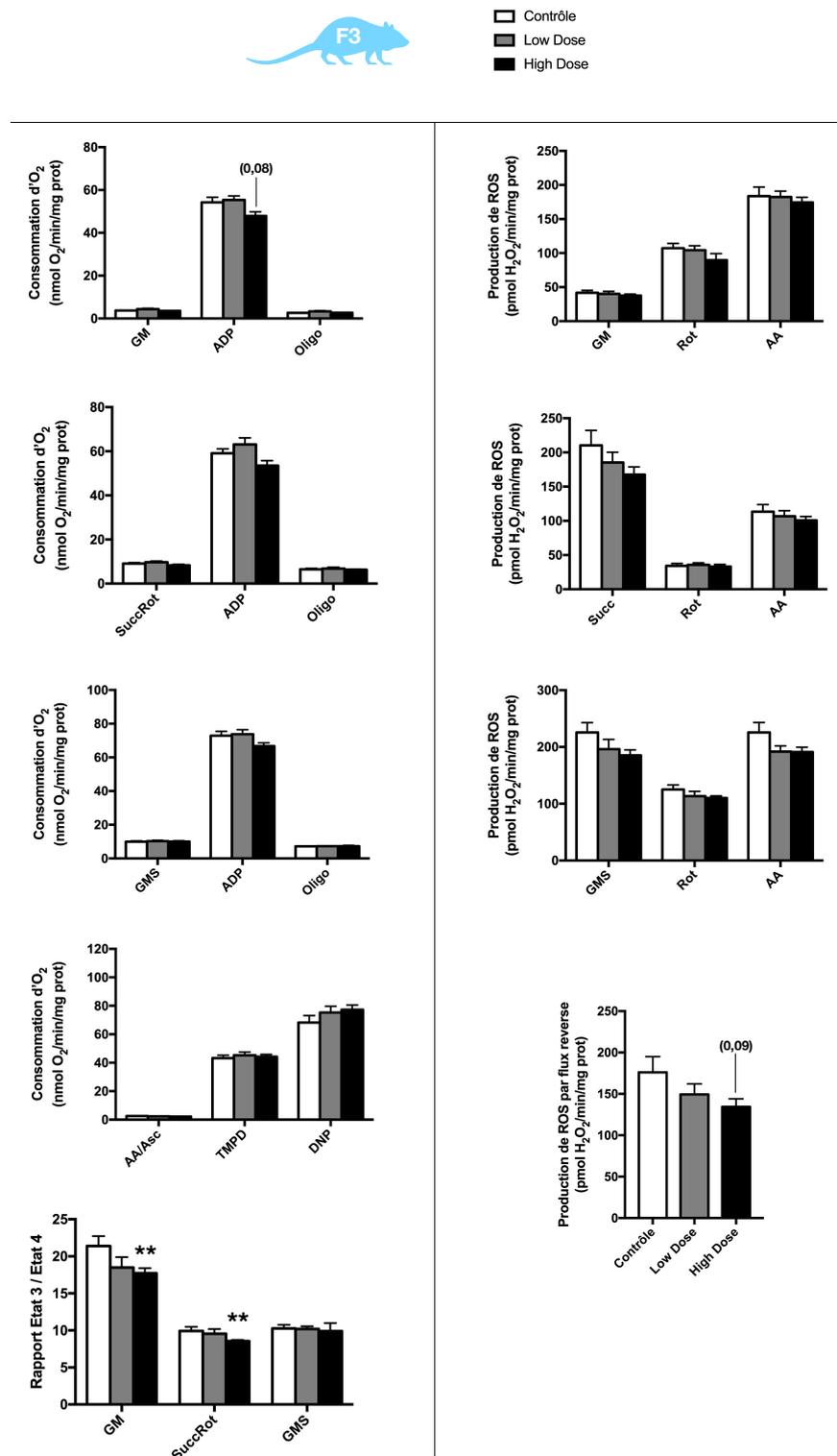


FIGURE 74 – Respiration (à gauche) et production de ROS (dérivés réactifs de l’oxygène) (à droite) par la mitochondrie hépatique des mâles F3 âgés de 3 semaines (n=10). Les données sont exprimées en moyenne \pm l’erreur type (SEM) et comparées aux données du groupe contrôle. Les tendances ($0,1 < p$ -valeur $< 0,05$) sont exprimées entre parenthèses; ** p-valeur $< 0,01$. AA, antimycine A; ADP, adénosine diphosphate; Asc, ascorbate; DNP, 2,4-dinitrophénol; GM, glutamate-malate; GMS, glutamate-malate-succinate; Oligo, oligomycine; Rot, roténone; Succ, succinate; TMPD, N,N,N’,N’-tétraméthyl-1,4- phénylènediamine.

Pour les rats de la génération F3, une tendance à la diminution de la consommation d'O₂ à l'état 3 est observée pour le groupe HD en présence de glutamate-malate (p-valeur=0,08) (Figure 74). Aucun autre impact sur la consommation d'O₂ n'est retrouvé en présence d'autres substrats pour les groupes LD et HD par rapport au groupe contrôle. Un moins bon couplage significatif des mitochondries hépatiques du groupe HD par rapport au contrôle est observé en présence du glutamate-malate et succinate (p-valeurs=0,01). Une tendance à la diminution du "flux reverse" est observée pour les mitochondries hépatiques du groupe HD par rapport au contrôle (p-valeur=0,09).

7.3.2.5.3 Expression des complexes de la chaîne respiratoire mitochondriale

Une diminution significative de l'expression du complexe II de la chaîne respiratoire mitochondriale des mitochondries hépatiques des groupes HD F1 et F3 est observé par rapport aux groupes contrôles des générations respectives (p-valeurs=0,05 et 0,02 respectivement) (Figure 75).

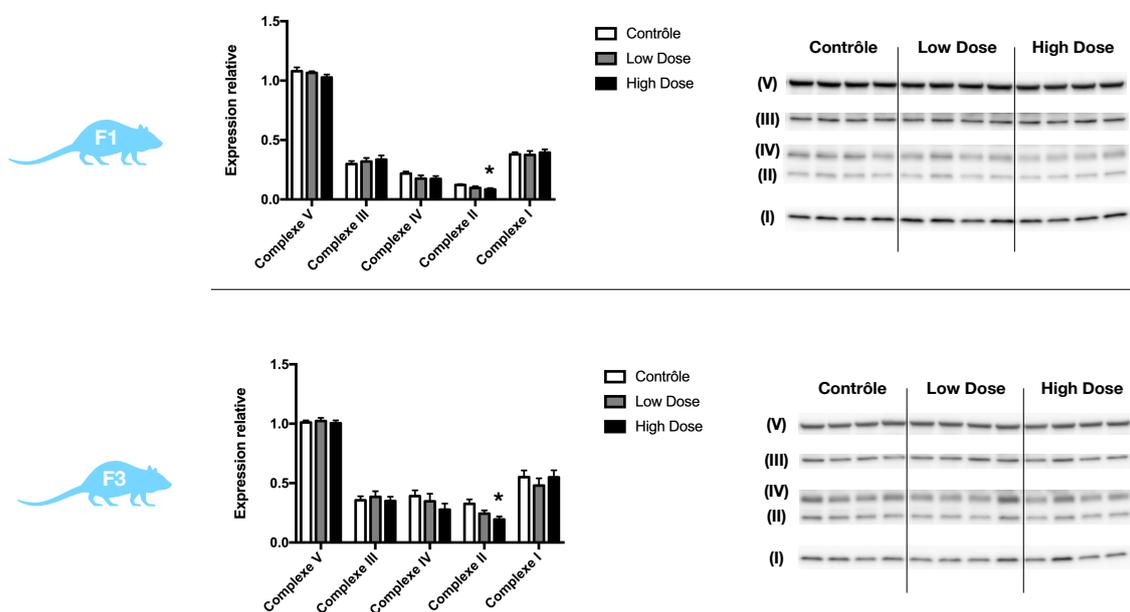


FIGURE 75 – Expression des complexes de la chaîne respiratoire mitochondriale hépatique des mâles âgés de 3 semaines pour les générations F1 et F3 (n=8). La figure de gauche représente l'expression relative de chacun des complexes par rapport au complexe V. La figure de droite est une photo du marquage des différents complexes de la chaîne respiratoire mitochondriale. Les données sont exprimées en moyenne \pm l'erreur type (SEM) et comparées aux données du groupe contrôle. * p-valeur < 0,05.

7.3.2.5.4 Dosage des paramètres du stress oxydant

Aucune modification de la quantité de TBARS et thiols hépatiques n'est observée pour les groupes LD et HD des ratons des générations F1 et F3 par rapport aux groupes contrôles des générations respectives, mis à part une augmentation significative de l'activité de la GPx pour la génération F3 HD (Figure 76).

7.4 Impacts des PE sur le métabolisme de l'adulte

7.4.1 Sur la composition corporelle

Aucune modification du poids des mâles à l'âge adulte n'est observée pour les groupes LD et HD des générations F0 et F1 ; seule une augmentation significative du poids des rats de la génération F3 LD est observée par rapport au groupe contrôle (380 g *versus* 401 g en moyenne, p-valeur = 0,04) (Figure 77).

Aucune modification de la masse relative du foie à l'âge adulte n'est observée pour les groupes LD et HD des générations F0 et F3 ; seule une hépatomégalie est observée pour les rats du groupe HD de la génération F1 par rapport au groupe contrôle (0,024 g/g *versus* 0,025 g/g en moyenne, p-valeur=0,02) (Figure 78).

Aucune modification de la masse relative du pancréas à l'âge adulte n'est observée pour les groupes LD et HD des générations F0, F1 et F3 par rapport aux groupes contrôles des générations respectives (Figure 79).

Pour le groupe LD, une tendance à la diminution de la masse relative des tissus adipeux épидидymal et rétropéritonéal droits est observée pour la génération F0 par rapport au groupe contrôle (p-valeurs=0,06 et 0,08 respectivement) sans impact significatif sur la masse relative de tissu adipeux total (0,041 g/g *versus* 0,036 g/g en moyenne, p-valeur=0,2) (Figure 80). Ces diminutions sont retrouvées de manière significative pour la génération F1 impactant la masse relative de tissu adipeux total (p-valeurs=0,004, 0,04 et 0,08 pour le tissu adipeux épидидymal, rétropéritonéal et total respectivement). Aucune modification n'est retrouvée pour la génération F3. Pour le groupe HD, seule une tendance à l'augmentation de la masse relative des tissus adipeux épидидymal et rétropéritonéal droit sont retrouvées pour la génération

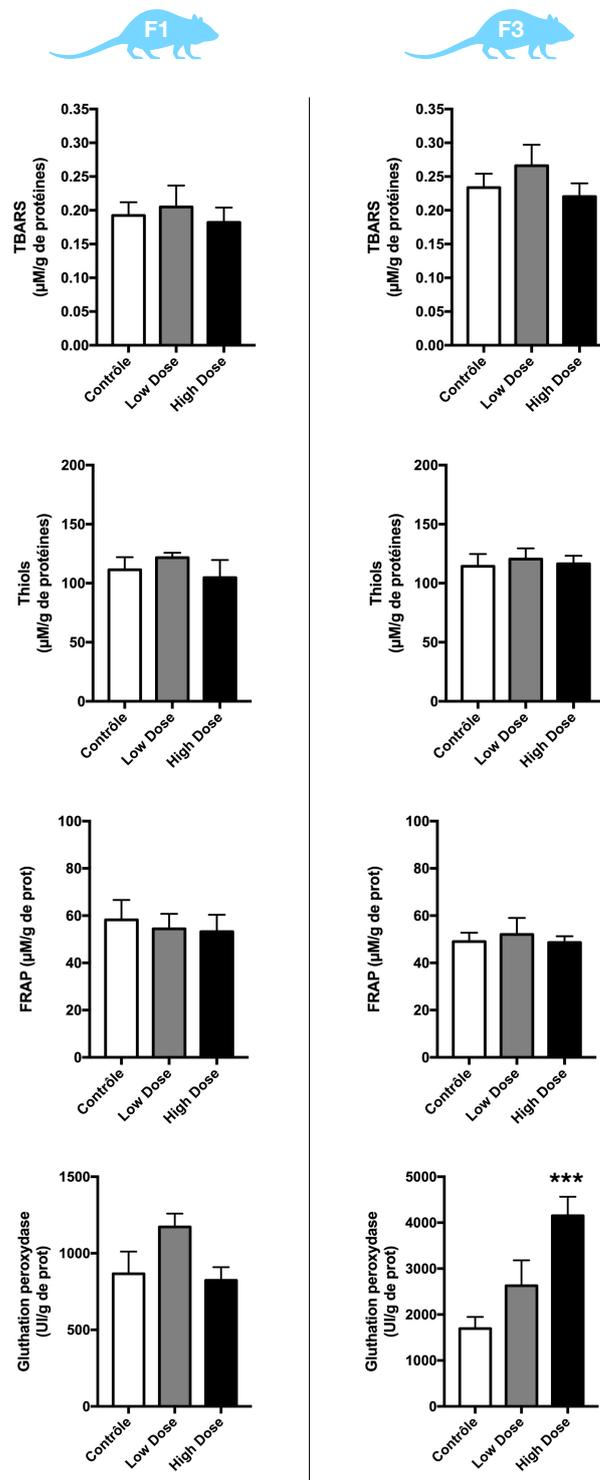


FIGURE 76 – Dosage des paramètres du stress oxydant hépatique des mâles âgés de 3 semaines pour les générations F1 et F3 (n=10). Les données sont exprimées en moyenne \pm l'erreur type (SEM) et comparées aux données du groupe contrôle. *** p-valeur < 0,001. FRAP, "ferric ion reducing antioxidant power"; TBARS, "thiobarbituric acid reactive substances".

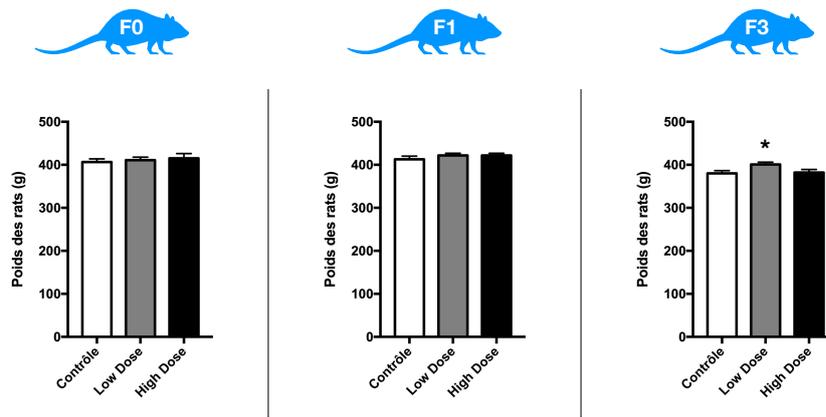


FIGURE 77 – Poids des mâles âgés de 19 semaines pour les générations F0 (n=34 à 46), F1 (n=36) et F3 (n=36). Les données sont exprimées en moyenne \pm l'erreur type (SEM) et comparées aux données du groupe contrôle. * p-valeur < 0,05.

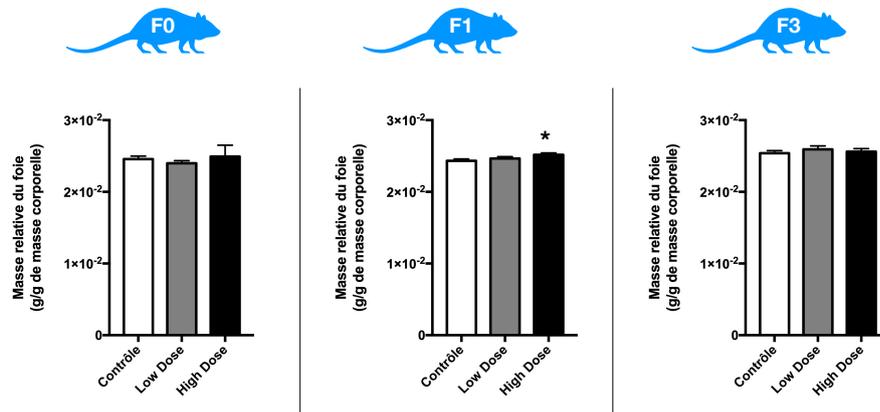


FIGURE 78 – Masse relative du foie des mâles âgés de 19 semaines pour les générations F0 (n=22 à 34), F1 (n=24) et F3 (n=24). Les données sont exprimées en moyenne \pm l'erreur type (SEM) et comparées aux données du groupe contrôle. * p-valeur < 0,05.

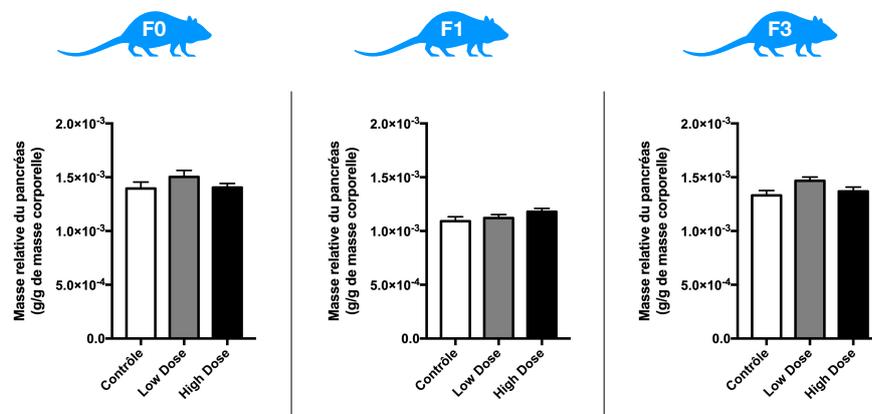


FIGURE 79 – Masse relative du pancréas des mâles âgés de 19 semaines pour les générations F0 (n=34 à 46), F1 (n=36) et F3 (n=36). Les données sont exprimées en moyenne \pm l'erreur type (SEM) et comparées aux données du groupe contrôle.

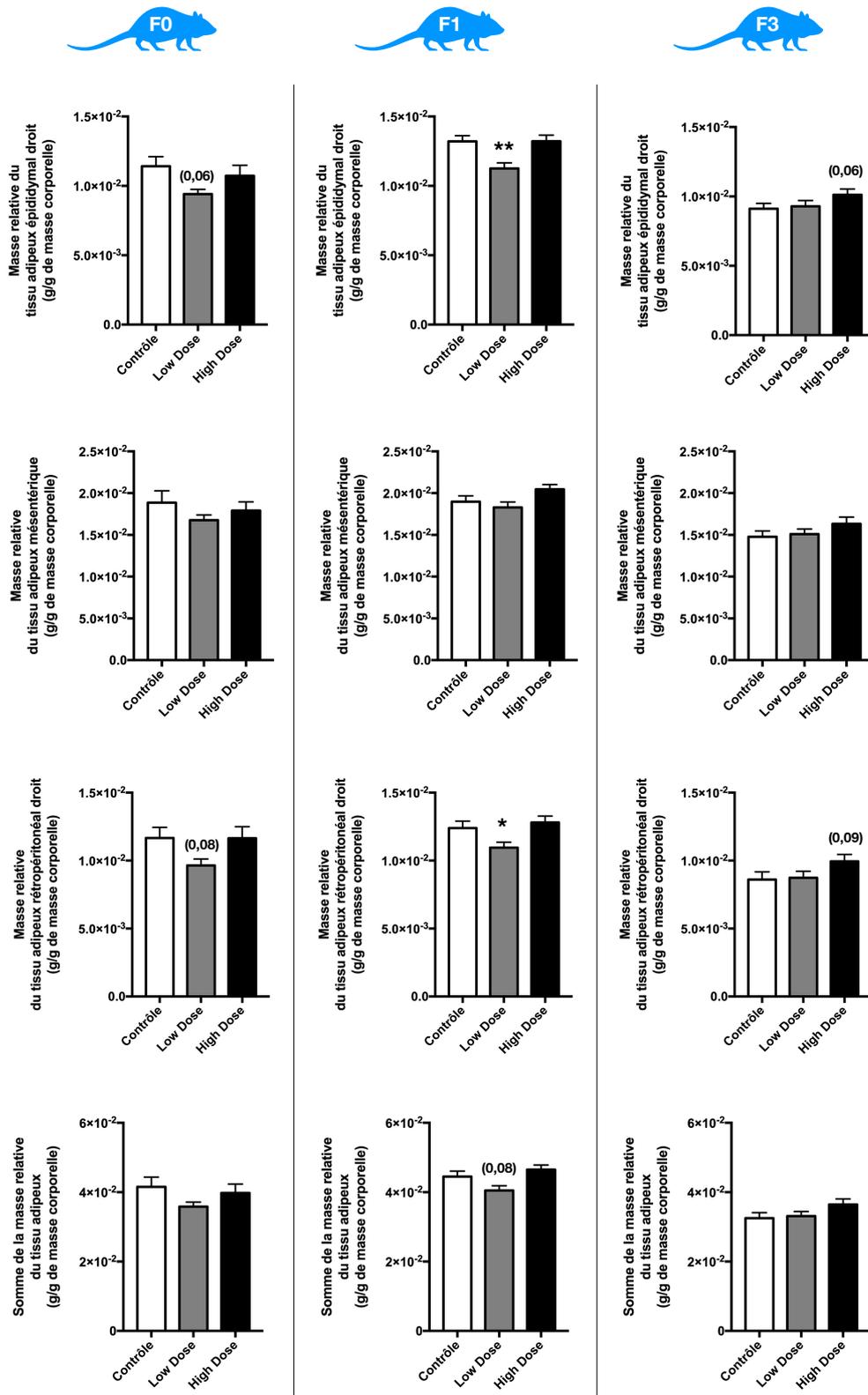


FIGURE 80 – Masse relative des différents types de tissus adipeux des mâles âgés de 19 semaines pour les générations F0 (n=34 à 46), F1 (n=36) et F3 (n=36). Les données sont exprimées en moyenne ± l'erreur type (SEM) et comparées aux données du groupe contrôle. Les tendances (0,1 < p < 0,05) sont exprimées entre parenthèses; * p < 0,05; ** p < 0,01.

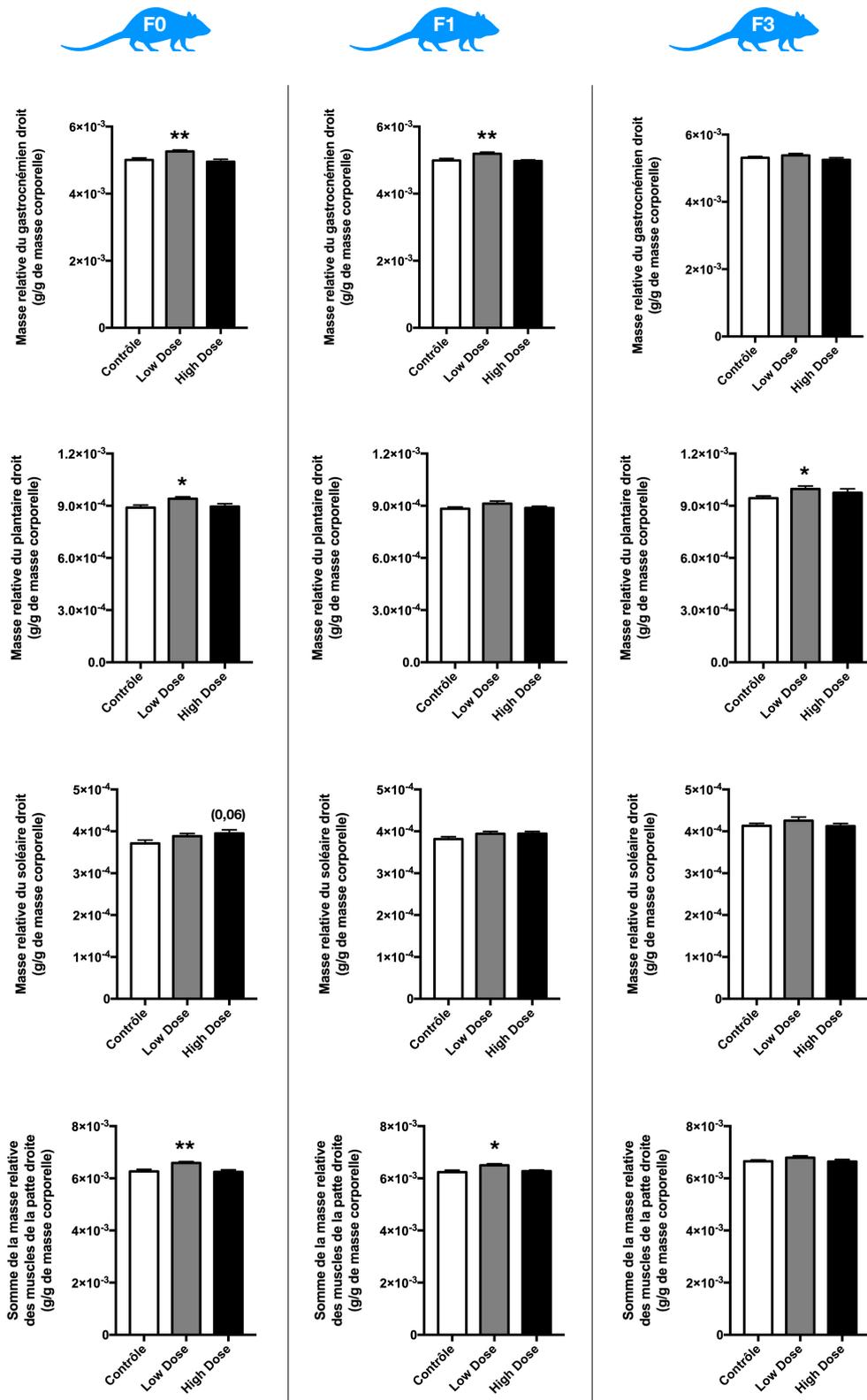


FIGURE 81 – Masse relative des muscles de la patte droite des mâles sevrés âgés de 3 semaines pour les générations F0 (n=34 à 46), F1 (n=36) et F3 (n=36). Les données sont exprimées en moyenne \pm l'erreur type (SEM) et comparées aux données du groupe contrôle. Les tendances ($0,1 < p\text{-valeur} < 0,05$) sont exprimées entre parenthèses; * p-valeur $< 0,05$; ** p-valeur $< 0,01$.

F3 (p-valeurs=0,06 et 0,09 respectivement) entraînant une légère baisse de la masse relative de tissu adipeux total mais de manière non significative (p-valeur=0,1).

Pour le groupe LD, une augmentation significative de la masse relative musculaire totale de la patte droite est retrouvée pour la génération F0 ($6,3 \cdot 10^{-3}$ g/g *versus* $6,6 \cdot 10^{-3}$ g/g en moyenne, p-valeur=0,002) et F1 ($6,2 \cdot 10^{-3}$ g/g *versus* $6,5 \cdot 10^{-3}$ g/g en moyenne, p-valeur=0,02) (Figure 81). Plus précisément, une augmentation significative de la masse relative du gastrocnémien et du plantaire droit est retrouvée pour la génération F0 (p-valeurs=0,003 et 0,02 respectivement) tandis que seule une augmentation significative de la masse relative du gastrocnémien droit est retrouvée pour la génération F1 (p-valeur = 0,008). Seule une augmentation de la masse relative du plantaire droit est retrouvée pour le groupe LD de la génération F3 (p-valeur=0,02) sans modification de la masse relative musculaire totale ($6,6 \cdot 10^{-3}$ g/g *versus* $6,8 \cdot 10^{-3}$ g/g en moyenne, p-valeur=0,2). Pour le groupe HD, aucune modification de la masse relative musculaire n'est observée pour les générations F0, F1 et F3; seule une tendance à l'augmentation de la masse relative du soléaire droit est retrouvée pour la génération F0 (p-valeur=0,06).

7.4.2 Sur les paramètres sanguins

Chez les mâles F0 âgés de 19 semaines, une diminution par 2 du taux de CPK est observée pour les F0 exposés par rapport au groupe contrôle (p-valeurs=0,006 et 0,05 pour les groupes LD et HD respectivement) (Tableau 30). De plus une augmentation de l'urémie et de la créatinémie est observée pour le groupe LD (p-valeurs=0,05) sans modification de l'acide urique. Seule une tendance à l'augmentation de l'urémie est retrouvée pour le groupe HD (p-valeur=0,07). Les paramètres sanguins lipidiques (cholestérolémie, triglycéridémies) et d'analyse de l'état hépatique (ASAT, ALAT, phosphatase alcaline) ne sont pas modifiés pour les groupes exposés par rapport au groupe contrôle, excepté une tendance à la diminution de l'ASAT circulante pour le groupe LD (p-valeur > 0,1).

Aucune modification des paramètres sanguins n'est retrouvée pour les mâles F1 19 semaines des groupes LD et HD par rapport au groupe contrôle, mis à part une augmentation significative du taux d'ASAT pour le groupe HD (p-valeur=0,005) (Tableau 31).

Seule une augmentation significative de la quantité d'ALAT est retrouvée pour les mâles F3 19 semaines du groupe HD par rapport au groupe contrôle (p-valeur=0,03) (Tableau 32). Également, une tendance à l'augmentation de la CPK circulante ainsi qu'une tendance à la diminution de la créatinine circulante sont observées pour le groupe HD (p-valeurs=0,08). Aucune différence significative des paramètres sanguins n'a été observée pour les LD.

♂ F0 19sem	Contrôle	Low dose	High dose
Cholestérol total (mmol/L)	1,77 ± 0,19	1,95 ± 0,29	1,88 ± 0,22
Triglycérides (mmol/L)	1,25 ± 0,39	1,17 ± 0,35	1,08 ± 0,36
ASAT (UI/L)	209,80 ± 100,93	170,00 ± 32,38 †	212,00 ± 131,65
ALAT (UI/L)	53,40 ± 8,38	47,00 ± 6,27	47,33 ± 6,44
Phosphatase alcaline (UI/L)	83,80 ± 15,63	80,80 ± 15,88	84,44 ± 19,38
CPK (UI/L)	16937,30 ± 6297,46	8682,20 ± 5998,93 **	8181,44 ± 2536,00 *
Troponine I (ng/L)	205,10 ± 195,82	337,10 ± 355,56	395,56 ± 649,078
Urée (mmol/L)	4,95 ± 0,41	5,60 ± 0,72 *	5,57 ± 0,66 †
Créatinine (μmol/L)	27,00 ± 2,87	29,90 ± 3,28 *	29,33 ± 1,66
Acide urique (μmol/L)	43,30 ± 7,13	46,20 ± 13,08	50,78 ± 10,99

TABLEAU 30 – Dosage des paramètres sanguins des mâles F0 à 19 semaines. Les données sont exprimées en moyenne ± écart-type (n=10) et comparées aux données du groupe contrôle. † 0,1 < p-valeur; * p-valeur < 0,05; ** p-valeur < 0,01. ALAT, alanine aminotransférase; ASAT, aspartate aminotransférase; CPK, créatine phosphokinase.

♂ F1 19sem	Contrôle	Low dose	High dose
Cholestérol total (mmol/L)	1,78 ± 0,30	2,02 ± 0,37	1,87 ± 0,27
Triglycérides (mmol/L)	1,41 ± 0,70	1,04 ± 0,49	0,98 ± 0,22
ASAT (UI/L)	145,10 ± 21,85	155,80 ± 21,11	189,60 ± 41,91 **
ALAT (UI/L)	43,70 ± 6,53	45,00 ± 10,77	44,50 ± 6,85
Phosphatase alcaline (UI/L)	76,20 ± 15,21	69,60 ± 27,18	68,10 ± 14,258
CPK (UI/L)	6760,40 ± 1790,85	7567,70 ± 1722,94	8465,30 ± 4032,94
Troponine I (ng/L)	211,30 ± 250,69	267,70 ± 248,47	122,10 ± 92,45
Urée (mmol/L)	5,38 ± 0,60	5,88 ± 0,73	5,69 ± 0,58
Créatinine (μmol/L)	29,30 ± 1,77	29,80 ± 2,94	29,30 ± 2,31
Acide urique (μmol/L)	45,40 ± 9,75	44,50 ± 8,53	41,60 ± 6,75

TABLEAU 31 – Dosage des paramètres sanguins des mâles F1 à 19 semaines. Les données sont exprimées en moyenne ± écart-type (n=10) et comparées aux données du groupe contrôle. ** p-valeur < 0,01. ALAT, alanine aminotransférase; ASAT, aspartate aminotransférase; CPK, créatine phosphokinase.

♂ F3 19sem	Contrôle	Low dose	High dose
Cholestérol total (mmol/L)	1,68 ± 0,52	1,96 ± 0,36	1,78 ± 0,27
Triglycérides (mmol/L)	1,03 ± 0,55	0,90 ± 0,36	1,01 ± 0,40
ASAT (UI/L)	169,40 ± 21,14	177,60 ± 32,28	192,50 ± 34,36
ALAT (UI/L)	45,60 ± 4,67	49,20 ± 7,32	51,70 ± 5,58 *
Phosphatase alcaline (UI/L)	86,50 ± 18,23	98,50 ± 45,02	93,40 ± 51,31
CPK (UI/L)	7630,20 ± 2278,09	7567,70 7251,90 ± 3323,37	10657,00 ± 3815,79 †
Troponine I (ng/L)	242,80 ± 218,20	283,90 ± 292,23	184,70 ± 128,48
Urée (mmol/L)	5,93 ± 0,83	6,13 ± 1,24	5,95 ± 0,88
Créatinine (μmol/L)	31,40 ± 3,63	29,90 ± 3,63	28,20 ± 2,70 †
Acide urique (μmol/L)	53,30 ± 14,97	54,00 ± 10,96	55,20 ± 11,31

TABEAU 32 – Dosage des paramètres sanguins des mâles F3 à 19 semaines. Les données sont exprimées en moyenne ± écart-type (n=10) et comparées aux données du groupe contrôle. † 0,1 < p-valeur; * p-valeur < 0,05. ALAT, alanine aminotransférase; ASAT, aspartate aminotransférase; CPK, créatine phosphokinase.

7.4.3 Sur le tissu hépatique

Pour les mâles adultes de la génération F0, l'ensemble des lames possèdent une mauvaise homogénéité de coloration ne permettant pas une analyse des teintes des hépatocytes et ce, peu importe les groupes (Figure 82). Pour tous les groupes, une bonne organisation tissulaire est observée, avec des hépatocytes plus ou moins dessinés et des formes de noyaux différentes. Cependant, la présence de noyaux glycogénés augmentent avec la concentration d'exposition (12 % des lames pour les contrôles; 25 % des lames pour les LD; 37 % des lames pour les HD) et sont présents en faible à moyenne quantité. Aucune lame des groupes contrôle et LD ne possède d'hépatocytes gras, cependant une grande quantité d'hépatocyte gras a été observée chez un individu du groupe HD. La quantité de lymphocyte tissulaire est augmentée chez les groupes LD et HD (12 % des lames contrôle *versus* 62 % des lames LD et HD). Lorsqu'ils sont présents, les lymphocytes sont retrouvés en faibles quantités dans les tissus.

Pour les mâles adultes de la génération F1, une bonne organisation du tissu est observée pour tous les groupes avec des teintes moyennes d'hépatocytes plus ou moins bien dessinées ainsi que des noyaux de formes différentes (Figure 82). Des noyaux glycogénés sont observés dans tous les groupes (50 %, 62 % et 87 % des

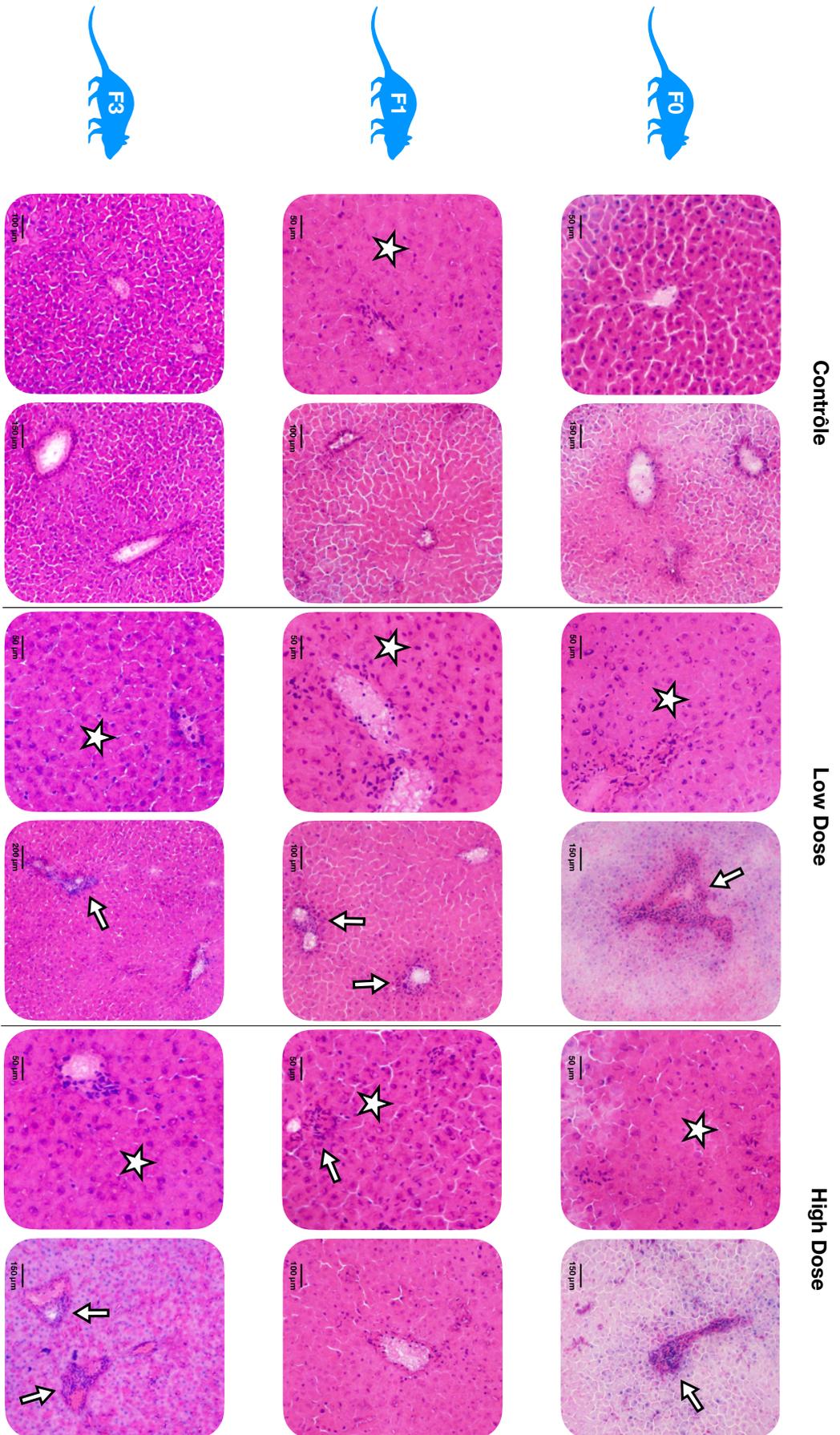


FIGURE 82 – Organisation du tissu hépatique chez les mâles âgés de 19 semaines pour les générations F0, F1 et F3 (n=8). L'échelle est représentée en bas à gauche de chaque image. Les noyaux glycogénés sont représentés par une étoile tandis que les flèches pointent les amas inflammatoires.

lames pour les groupes contrôles, LD et HD respectivement) en faible à moyenne quantité. De même, tous les tissus présentent une quantité faible de lymphocytes tissulaires. Un individu du groupe HD présente une faible quantité d'hépatocytes gras localisés dans le tissu.

Enfin, pour les mâles adultes de la génération F3, l'organisation du tissu hépatique est bonne pour les groupes contrôles et LD et plus ou moins organisé pour le groupe HD (Figure 82). Pour le groupe contrôle, les hépatocytes sont plus ou moins dessinés et de coloration moyenne à foncée, tandis que les hépatocytes sont de teinte moyenne, bien dessinés et plus ou moins dessinés pour les groupes LD et HD respectivement. La forme des noyaux de tous les tissus est différente et ce, peu importe le groupe. Des noyaux glycogénés sont observés pour 50 % des lames LD et sont retrouvés en quantités moyennes. Également, le groupe LD possèdent plus de lymphocytes tissulaires que les autres groupes (25 %, 75 % et 50 % des lames pour les groupes contrôles, LD et HD respectivement). Quelques hépatocytes gras localisés sont retrouvés chez 12 % des individus de tous les groupes.

7.4.4 Sur la gestion des substrats énergétiques

7.4.4.1 Test de tolérance au glucose et à l'insuline

Aucune modification de la gestion du glucose n'a été observée pour les mâles F0 19 semaines exposés par rapport aux mâles du groupe contrôle (Figure 83). Cependant une diminution de l'aire au-dessus de la courbe est mesurée pour le groupe HD F0 19 semaines lors du test de tolérance à l'insuline (5091 *versus* 4113 mg/dL.90min en moyenne, p-valeur=0,04) avec une augmentation significative de la glycémie à partir de 20 min et jusqu'à 120 min post-injection d'insuline.

Pour la génération F1 (Figure 84) aucune modification de la gestion de la glycémie lors du test de tolérance au glucose et à l'insuline, ainsi que des aires sous et au-dessus de la courbe respectivement ne sont observées pour les groupes LD et HD par rapport au groupe contrôle.

Pour la génération F3 (Figure 85), seule la glycémie du groupe HD est retrouvé augmenté à 60 min lors du test de tolérance à l'insuline, sans modification de l'aire au dessus de la courbe.

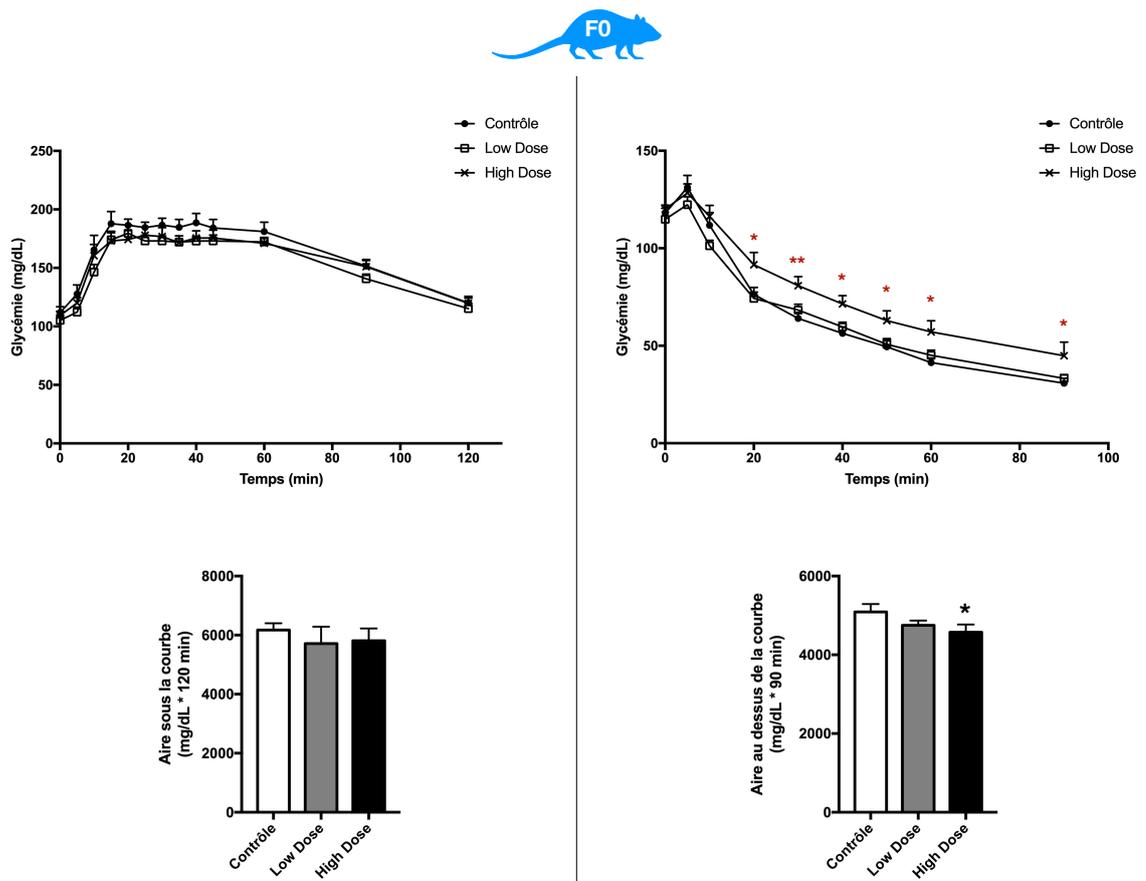


FIGURE 83 – Tests de tolérance au glucose (à gauche) et à l’insuline (à droite) ainsi que les représentations des aires sous ou au dessus de la courbe chez les mâles F0 âgés de 19 semaines (n=12). Les données sont exprimées en moyenne \pm l’erreur type (SEM) et comparées aux données du groupe contrôle. Pour les courbes, en rouge sont exprimés les résultats statistiques contrôle *versus* “high dose”. * p-valeur < 0,05; ** p-valeur < 0,01.

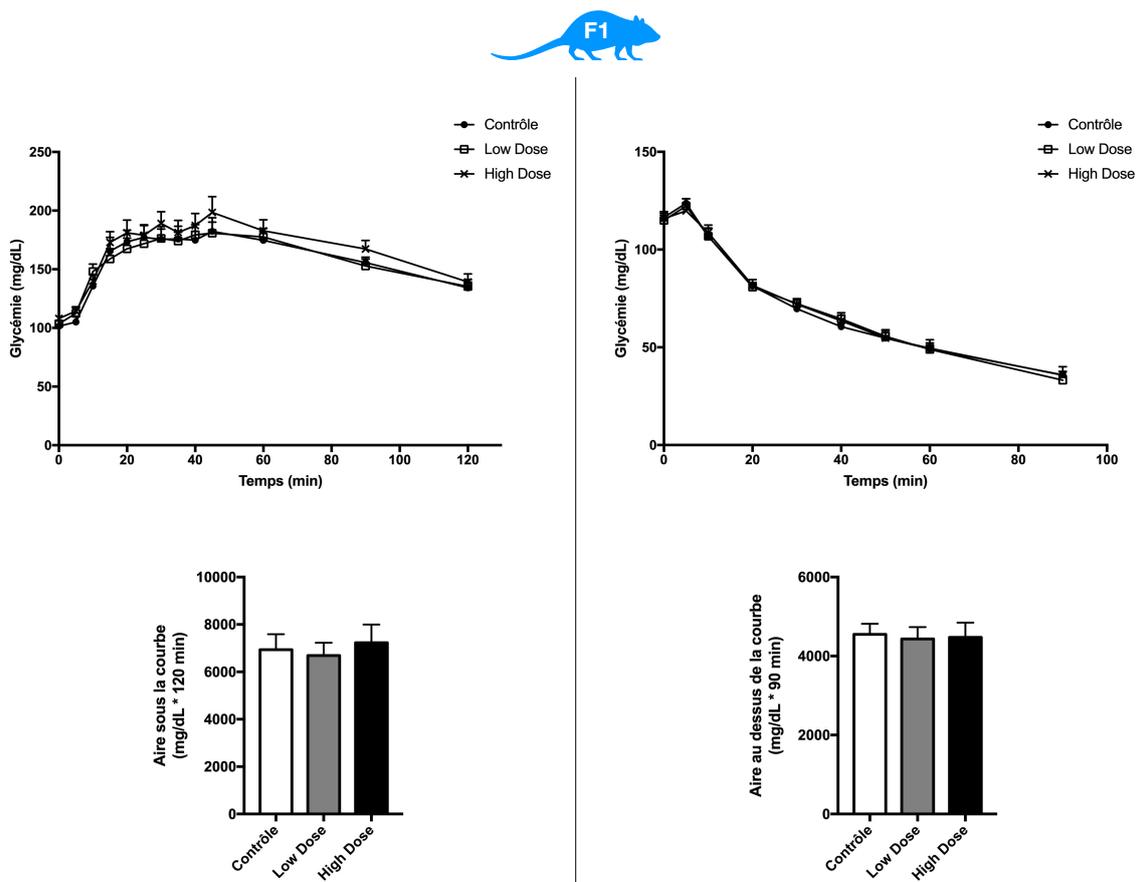


FIGURE 84 – Tests de tolérance au glucose (à gauche) et à l'insuline (à droite) ainsi que les représentations des aires sous ou au dessus de la courbe chez les mâles F1 âgés de 19 semaines (n=12). Les données sont exprimées en moyenne \pm l'erreur type (SEM) et comparées aux données du groupe contrôle.

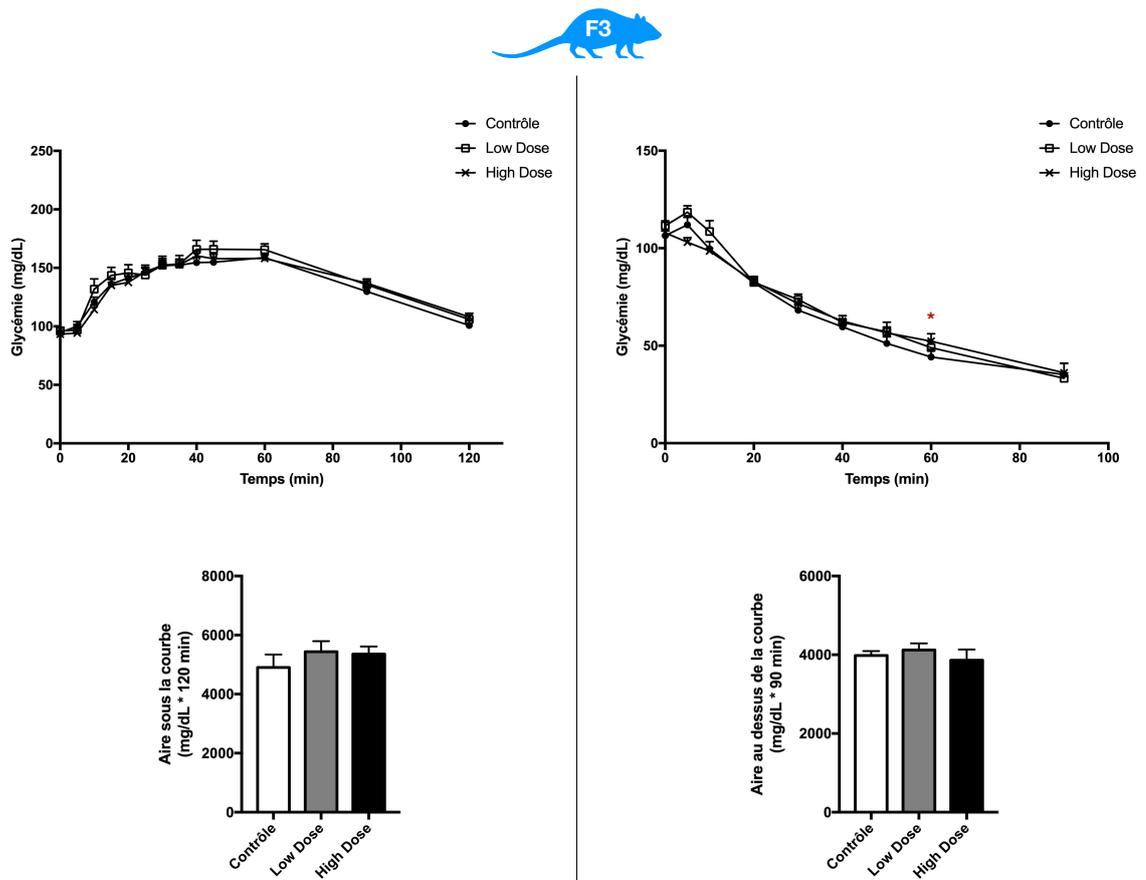


FIGURE 85 – Tests de tolérance au glucose (à gauche) et à l’insuline (à droite) ainsi que les représentations des aires sous ou au dessus de la courbe chez les mâles F3 âgés de 19 semaines (n=12). Les données sont exprimées en moyenne \pm l’erreur type (SEM) et comparées aux données du groupe contrôle. En rouge sont exprimés les résultats statistiques contrôle *versus* “high dose”. * p-valeur < 0,05.

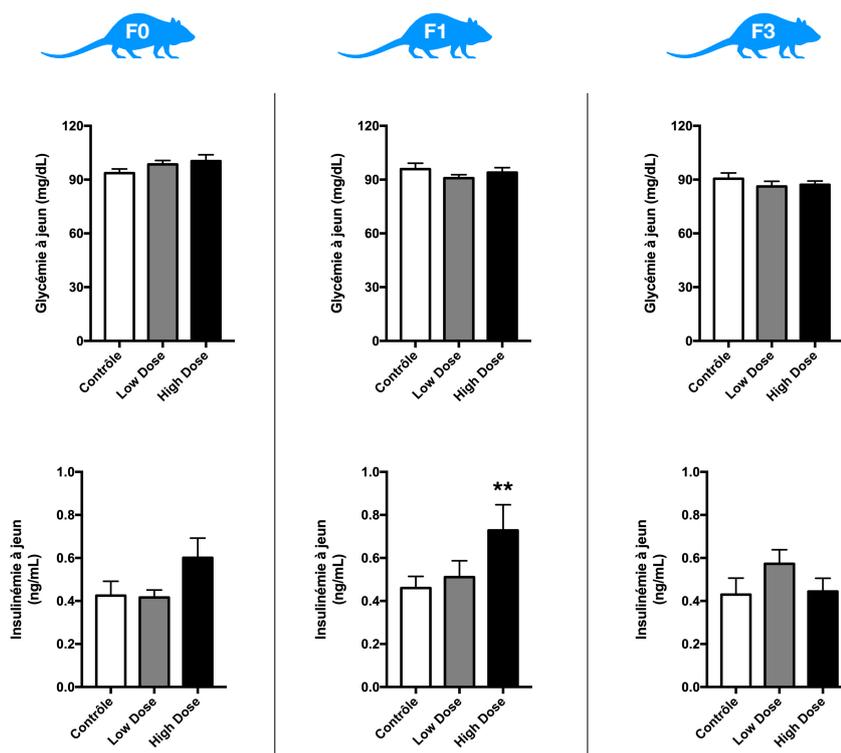


FIGURE 86 – Glycémie (n=12) et insulïnémie (n=8) à jeun des mâles âgés de 19 semaines pour les générations F0, F1 et F3. Les données sont exprimées en moyenne \pm l'erreur type (SEM) et comparées aux données du groupe contrôle. ** p-valeur < 0,01.

7.4.4.2 Glycémie et insulïnémie à jeun

Aucune modification de la glycémie à jeun n'est observée pour les groupes LD et HD des générations F0, F1 et F3 par rapport aux groupes contrôles des générations respectives (Figure 86). Aucune modification significative de l'insulïnémie à jeun n'est observée pour les générations F0 (0,43, 0,42 et 0,60 ng/mL en moyenne pour les groupes contrôles, LD et HD respectivement, p-valeurs=0,4 pour contrôle *versus* HD) et F3 (0,43, 0,57 et 0,43 ng/mL en moyenne pour les groupes contrôles, LD et HD respectivement, p-valeur=0,2 pour contrôle *versus* LD). Seule une augmentation significative de l'insulïnémie à jeun est retrouvée pour le groupe F1 HD par rapport au groupe contrôle (0,43 ng/mL *versus* 0,68 ng/mL en moyenne, p-valeur=0,004).

7.4.4.3 Dosage de l'insuline pancréatique

Aucune modification des réserves en insuline pancréatique n'est retrouvée pour les groupes LD et HD de la génération F0 par rapport au groupe contrôle (Figure 87).

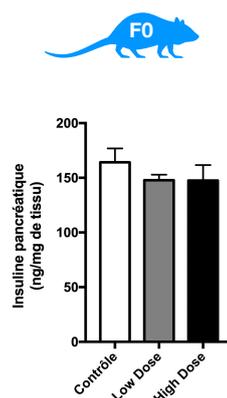


FIGURE 87 – Dosage de l’insuline pancréatique chez les mâles F0 âgés de 19 semaines (n=8). Les données sont exprimées en moyenne \pm l’erreur type (SEM) et comparées aux données du groupe contrôle.

7.4.4.4 Sensibilité des récepteurs à l’insuline

Au niveau hépatique, une augmentation significative de la phosphorylation d’AKT après stimulation à l’insuline et donc une plus grande sensibilité à l’insuline au niveau hépatique est retrouvée pour le groupe HD de la génération F1 (p-valeur=0,03) (Figure 88). Aucune autre modification de la phosphorylation d’AKT dans le tissu hépatique n’est retrouvée pour les générations F1 et F3.

Aucune modification de la phosphorylation d’AKT dans le tissu musculaire n’est retrouvée pour les groupes LD et HD des générations F1 et F3 par rapport aux groupes contrôles des générations respectives (Figure 89).

7.4.4.5 Dosage du glycogène hépatique et musculaire

Seule une tendance à l’augmentation de la quantité de glycogène musculaire est retrouvée pour le groupe LD de la génération F1 (p-valeur=0,08) (Figure 90). Aucune autre modification de la quantité de glycogène hépatique et intra-musculaire n’est retrouvée pour les groupes LD et HD des générations F0, F1 et F3 par rapport aux groupes contrôles des générations respectives.

7.4.4.6 Dosage des triglycérides hépatiques et musculaires

Une diminution significative de la quantité de TAG hépatiques ainsi qu’une augmentation significative de la quantité de TAG musculaires ont été retrouvées pour le groupe HD de la génération F1 par rapport au groupe contrôle (p-valeurs=0,04 et 0,03 respectivement) (Figure 91). Cependant, la quantité totale de TAG totale dans

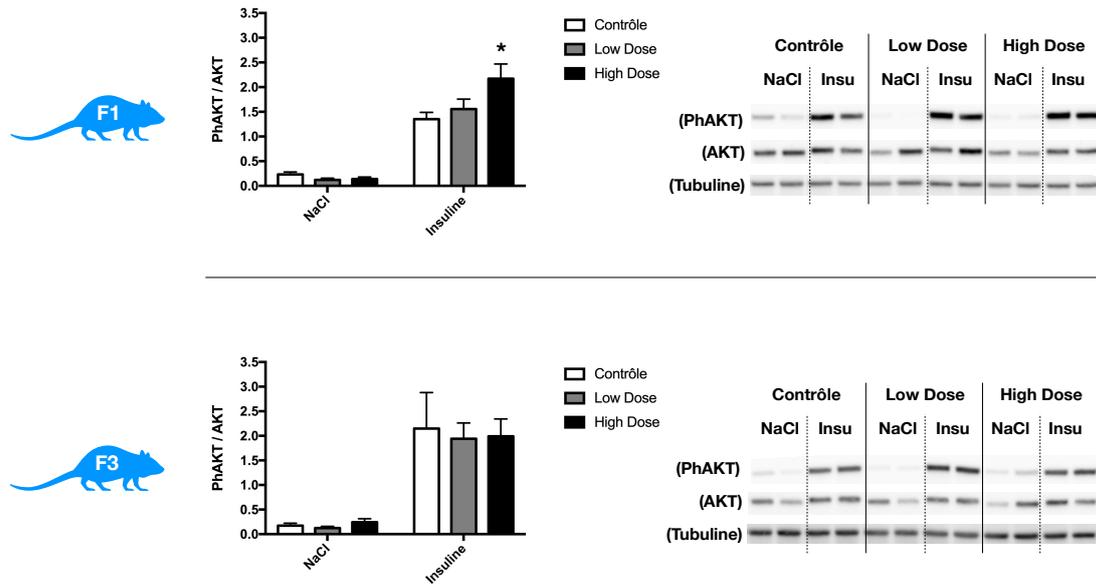


FIGURE 88 – Sensibilité des récepteurs à l'insuline du foie des mâles âgés de 19 semaines pour les générations F1 et F3 (n=8). La figure de gauche représente l'activation de l'AKT (protéine kinase B) grâce au rapport de sa forme phosphorylé sur l'AKT total. La figure de droite est une photo du marquage de l'AKT, l'AKT phosphorylé et de la tubuline par western-blot après stimulation ou non à l'insuline (Insu). Les données sont exprimées en moyenne \pm l'erreur type (SEM) et comparées aux données du groupe contrôle. * p-valeur < 0,05.

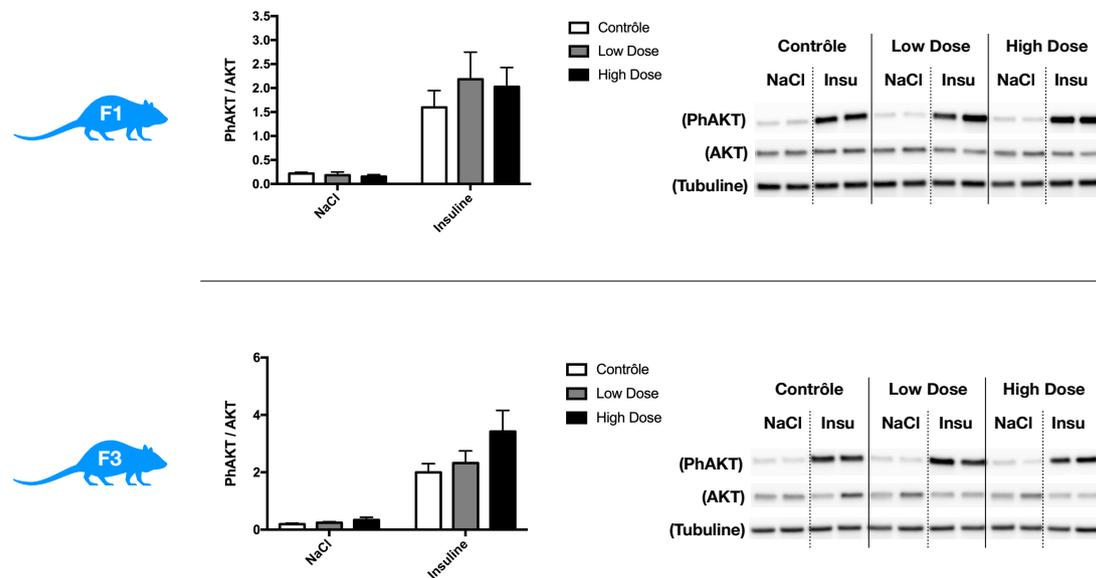


FIGURE 89 – Sensibilité des récepteurs à l'insuline du gastrocnémien des mâles âgés de 19 semaines pour les générations F1 et F3 (n=8). La figure de gauche représente l'activation de l'AKT (protéine kinase B) grâce au rapport de sa forme phosphorylé sur l'AKT total. La figure de droite est une photo du marquage de l'AKT, l'AKT phosphorylé et de la tubuline par western-blot après stimulation ou non à l'insuline (Insu). Les données sont exprimées en moyenne \pm l'erreur type (SEM) et comparées aux données du groupe contrôle.

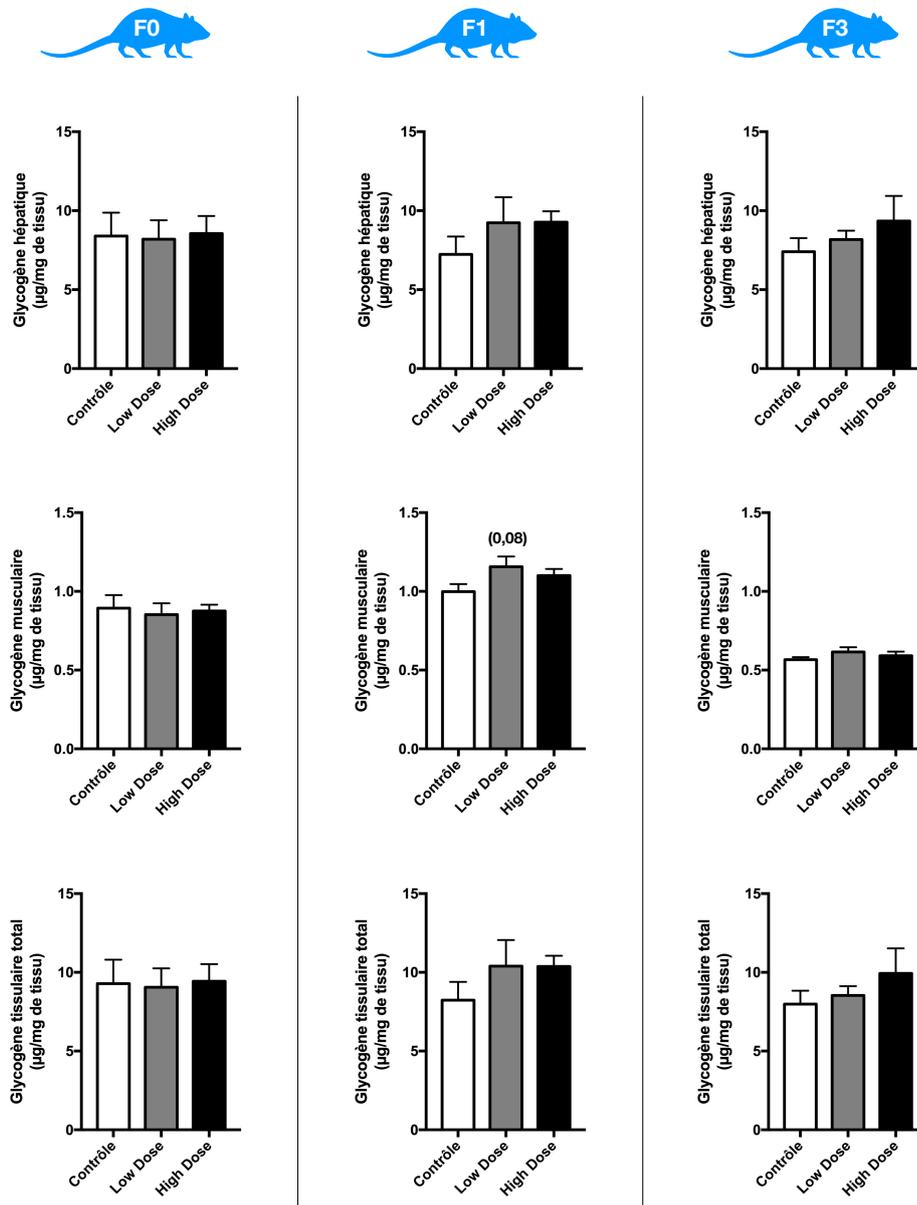


FIGURE 90 – Dosage du glycogène hépatique et musculaire chez les mâles âgés de 19 semaines des générations F0, F1 et F3 (n=8). Les données sont exprimées en moyenne \pm l'erreur type (SEM) et comparées aux données du groupe contrôle. Les tendances ($0,1 < p\text{-valeur} < 0,05$) sont exprimées entre parenthèses.

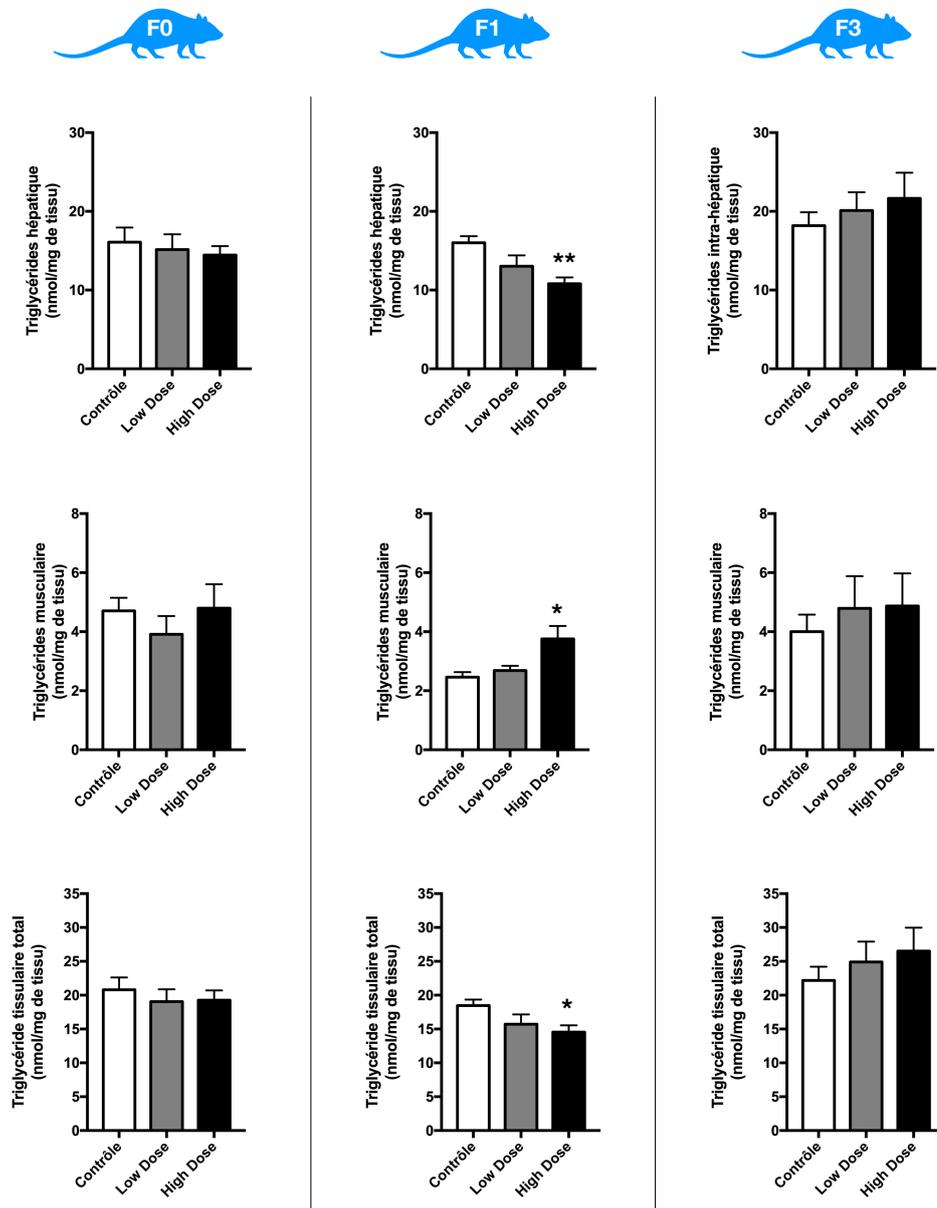


FIGURE 91 – Dosage des triglycérides hépatiques et musculaires chez les mâles âgés de 19 semaines des générations F0, F1 et F3 (n=8). Les données sont exprimées en moyenne \pm l'erreur type (SEM) et comparées aux données du groupe contrôle. * p-valeur < 0,05; ** p-valeur < 0,01.

les tissus reste significativement diminuée par rapport au groupe contrôle (18,47 nmol/mg *versus* 14,56 nmol/mg en moyenne, p -valeur=0,02). Aucune autre modification de la teneur en TAG dans le foie et le muscle n'a été retrouvée pour les groupes LD et HD des générations F0, F1 et F3 par rapport aux groupes contrôles de générations respectives.

7.4.5 Sur le fonctionnement mitochondrial hépatique et le stress oxydant

7.4.5.1 Densité mitochondriale

Aucune modification de la densité mitochondriale hépatique n'est retrouvée pour les groupes LD et HD des générations F0, F1 et F3 par rapport aux groupes contrôles des générations respectives (Figur 92).

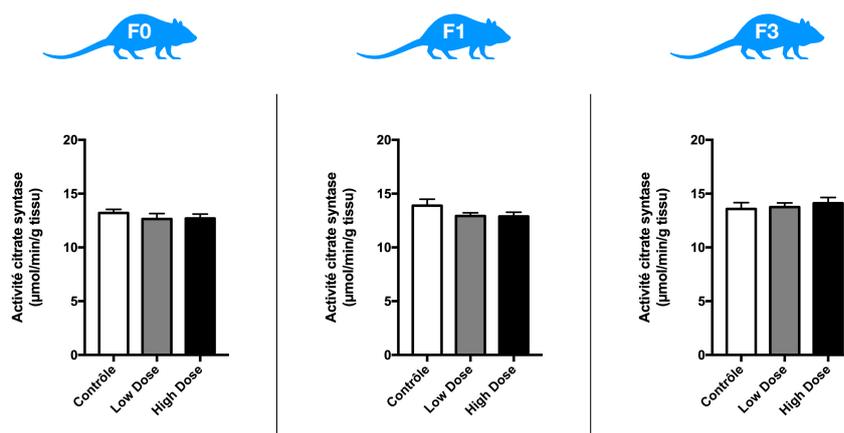


FIGURE 92 – Densité mitochondriale hépatique par mesure de l'activité de la citrate synthase des mâles âgés de 3 semaines pour les générations F0, F1 et F3 (n=10). Les données sont exprimées en moyenne \pm l'erreur type (SEM) et comparées aux données du groupe contrôle.

7.4.5.2 Respiration et production de ROS par la mitochondrie hépatique

Pour les mâles adultes de la génération F0, seule une augmentation significative de la consommation d'O₂ à l'état 3 est observée en présence de glutamate-malate-succinate pour le groupe LD (p -valeur=0,05), et plus particulièrement une augmentation significative de la consommation d'O₂ par le complexe IV (p -valeur=0,03) au vu des résultats associant antimycine A et TMPD (Figure 93). Aucune modification de la consommation d'O₂ par le groupe HD ni de modification du couplage des mitochondries des groupes LD et HD ne sont observées par rapport au groupe

contrôle. Une augmentation significative de la fuite d'électron et donc de la production de ROS par les complexes I et III, ainsi que par "flux reverse", est observée en présence des substrats glutamate-malate et succinate pour le groupe LD par rapport au groupe contrôle. Aucune modification de la production de ROS n'est observée pour le groupe HD.

Pour les mâles adultes de la génération F1, une augmentation de la consommation d'O₂ à l'état 3 en présence du substrat glutamate-malate est observée pour le groupe HD par rapport au groupe contrôle (p-valeur=0,01) (Figure 94). Aucune modification de la consommation d'O₂ par le groupe LD n'est observée. Une tendance à la diminution, voir une diminution significative du couplage des mitochondries hépatiques en présence des substrats glutamate-malate et glutamate-malate-succinate respectivement sont observés pour le groupe HD. Un meilleur couplage des mitochondries hépatiques du groupe LD par rapport au groupe contrôle est observée en présence du substrat succinate (p-valeur=0,009). Une tendance à l'augmentation de la fuite d'électron et donc de la production de ROS par le complexe III est observée pour les groupes LD et HD en présence des substrats glutamate-malate et succinate.

Pour les mâles adultes de la génération F3, aucune modification de la consommation d'O₂ n'est observée pour les groupes LD et HD par rapport au groupe contrôle. Un meilleur couplage des mitochondries hépatiques du groupe HD est observé en présence du substrat succinate pour le groupe HD (p-valeur=0,01) (Figure 95). Aucune modification de la production de ROS n'est observée pour les groupes LD et HD par rapport au groupe contrôle, seule une tendance à la diminution de la production de ROS par les complexes I et III est observée pour le groupe HD en présence de glutamate-malate-succinate.

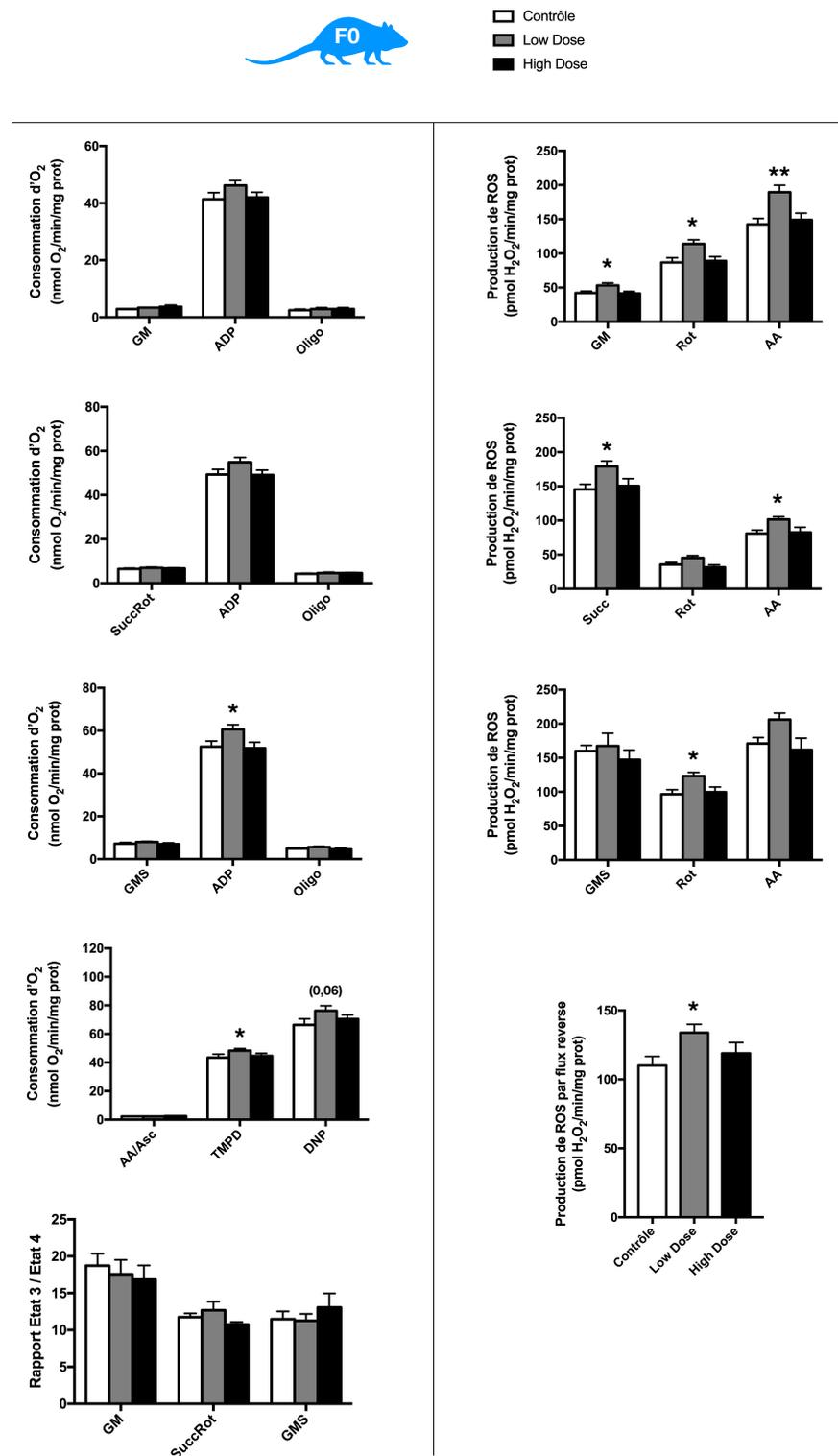


FIGURE 93 – Respiration (à gauche) et production de ROS (dérivés réactifs de l’oxygène) (à droite) par la mitochondrie hépatique des mâles F0 âgés de 19 semaines (n=10). Les données sont exprimées en moyenne \pm l’erreur type (SEM) et comparées aux données du groupe contrôle. Les tendances ($0,1 < p$ -valeur $< 0,05$) sont exprimées entre parenthèses; * p-valeur $< 0,05$; ** p-valeur $< 0,01$. AA, antimycine A; ADP, adénosine diphosphate; Asc, ascorbate; DNP, 2,4-dinitrophénol; GM, glutamate-malate; GMS, glutamate-malate-succinate; Oligo, oligomycine; Rot, roténone; Succ, succinate; TMPD, N,N,N,N’-tétraméthyl-1,4- phénylènediamine.

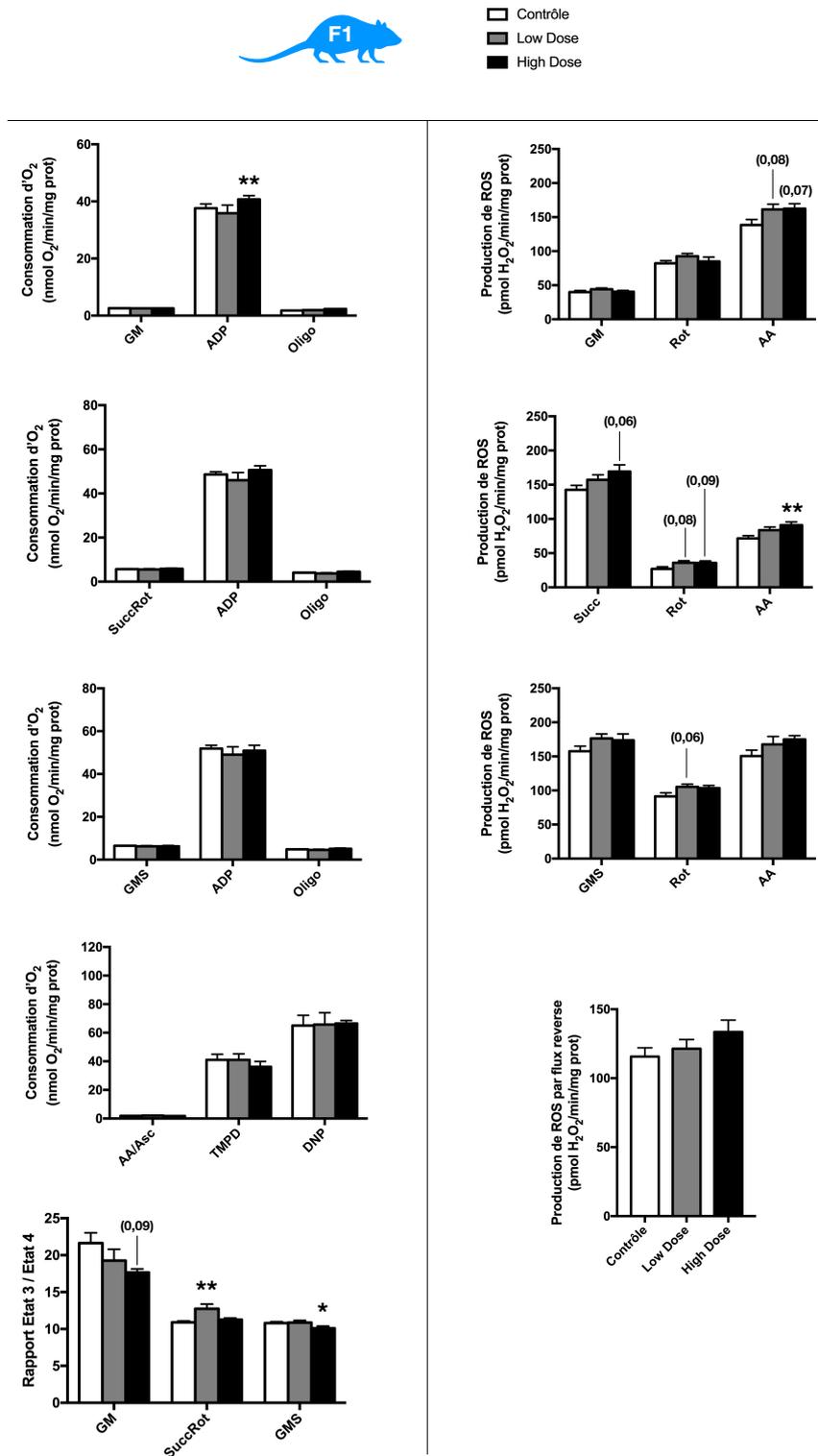


FIGURE 94 – Respiration (à gauche) et production de ROS (dérivés réactifs de l'oxygène) (à droite) par la mitochondrie hépatique des mâles F1 âgés de 19 semaines (n=10). Les données sont exprimées en moyenne \pm l'erreur type (SEM) et comparées aux données du groupe contrôle. Les tendances ($0,1 < p$ -valeur $< 0,05$) sont exprimées entre parenthèses; * p-valeur $< 0,05$; ** p-valeur $< 0,01$. AA, antimycine A; ADP, adénosine diphosphate; Asc, ascorbate; DNP, 2,4-dinitrophénol; GM, glutamate-malate; GMS, glutamate-malate-succinate; Oligo, oligomycine; Rot, roténone; Succ, succinate; TMPD, N,N,N',N'-tétraméthyl-1,4- phénylènediamine.

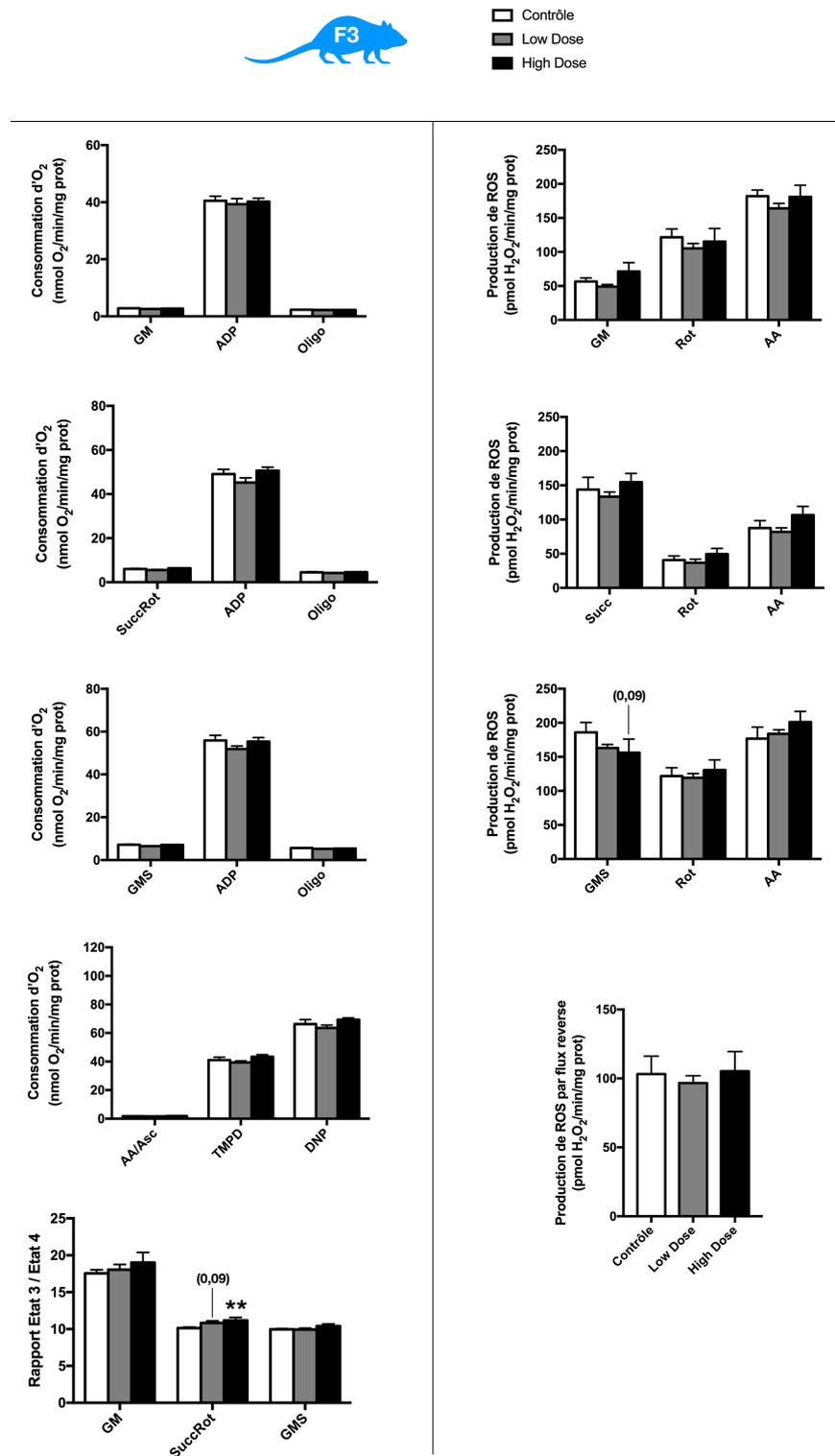


FIGURE 95 – Respiration (à gauche) et production de ROS (dérivés réactifs de l'oxygène) (à droite) par la mitochondrie hépatique des mâles F3 âgés de 19 semaines (n=10). Les données sont exprimées en moyenne \pm l'erreur type (SEM) et comparées aux données du groupe contrôle. Les tendances ($0,1 < p$ -valeur $< 0,05$) sont exprimées entre parenthèses; ** p-valeur $< 0,01$. AA, antimycine A; ADP, adénosine diphosphate; Asc, ascorbate; DNP, 2,4-dinitrophénol; GM, glutamate-malate; GMS, glutamate-malate-succinate; Oligo, oligomycine; Rot, roténone; Succ, succinate; TMPD, N,N,N',N'-tétraméthyl-1,4- phénylènediamine.

7.4.5.3 Expression des complexes de la chaîne respiratoire mitochondriale

Une augmentation significative de l'expression du complexe III de la chaîne respiratoire mitochondriale hépatique est mesurée pour le groupe F0 LD par rapport au témoin (p-valeur=0,02) (Figure 96). De plus, une tendance à l'augmentation de ce même complexe est retrouvée pour le groupe F1 HD. Au niveau transgénérationnel, une diminution significative de l'expression du complexe I et III est retrouvée pour le groupe F3 LD par rapport au groupe contrôle (p-valeurs=0,003 et 0,03 respectivement).

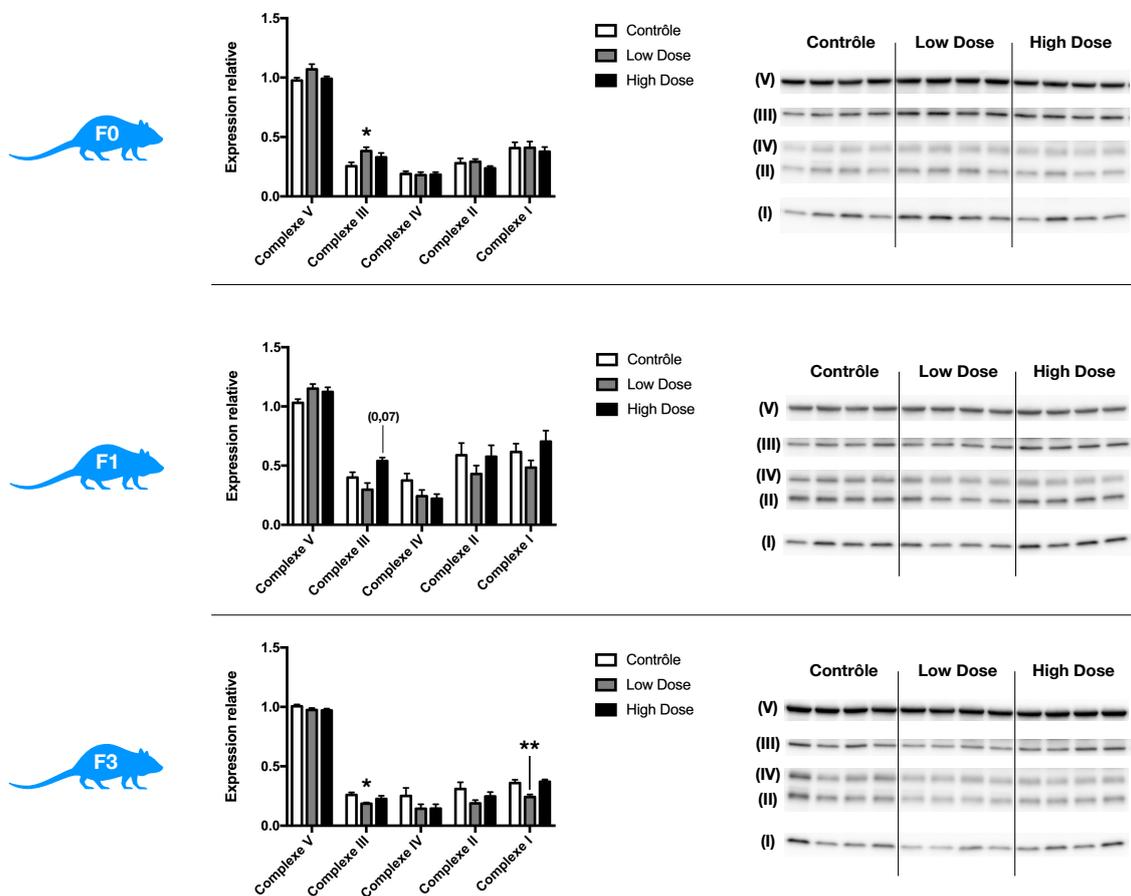


FIGURE 96 – Expression des complexes de la chaîne respiratoire mitochondriale hépatique des mâles âgés de 19 semaines pour les générations F0, F1 et F3 (n=8). La figure de gauche représente l'expression relative de chacun des complexes par rapport au complexe V. La figure de droite est une photo du marquage des différents complexes de la chaîne respiratoire mitochondriale. Les données sont exprimées en moyenne \pm l'erreur type (SEM) et comparées aux données du groupe contrôle. Les tendances ($0,1 < p\text{-valeur} < 0,05$) sont exprimées entre parenthèses; * p-valeur $< 0,05$; ** p-valeur $< 0,01$.

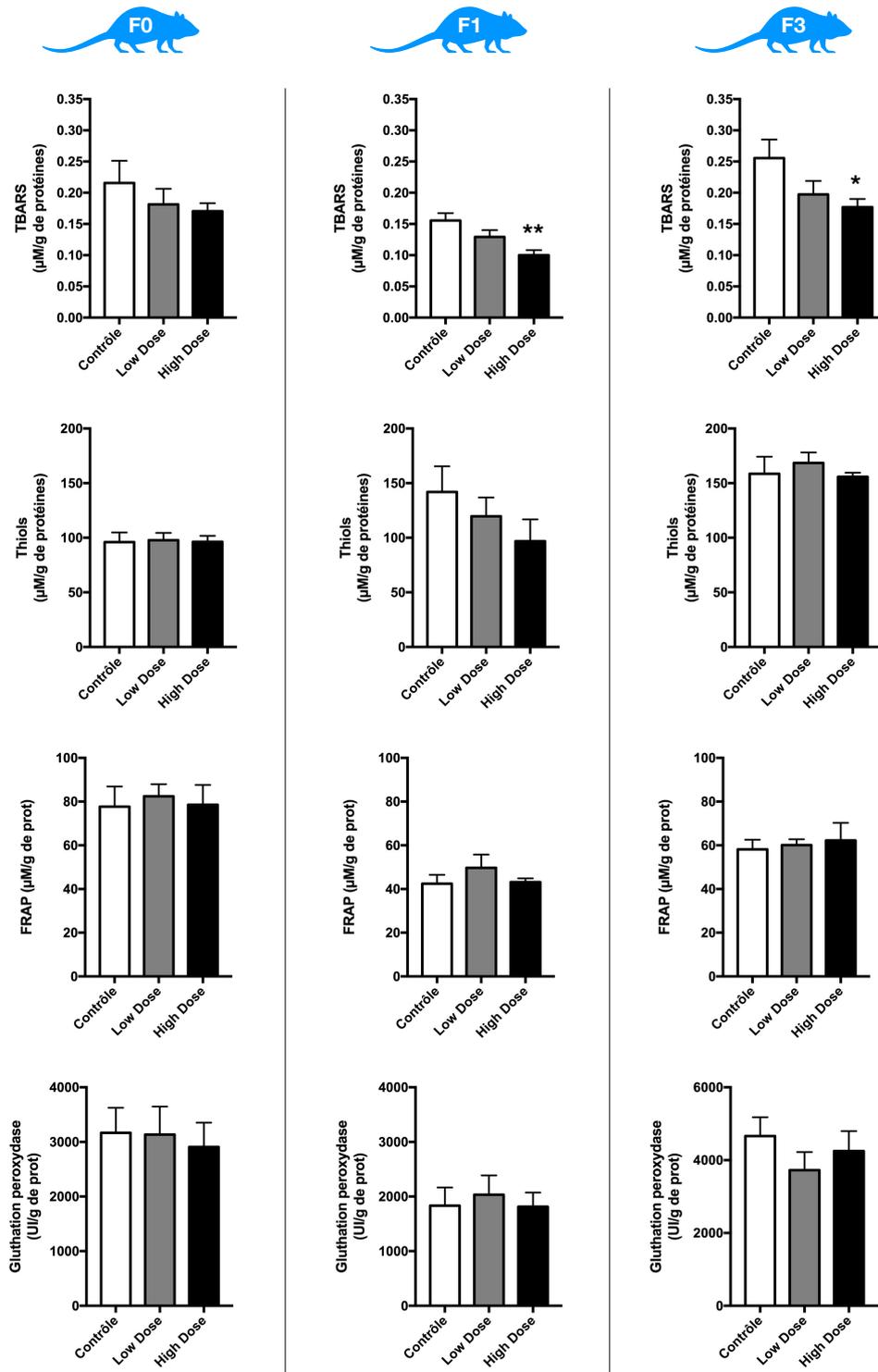


FIGURE 97 – Dosage des paramètres du stress oxydant hépatique des mâles âgés de 19 semaines pour les générations F0, F1 et F3 (n=10). Les données sont exprimées en moyenne ± l'erreur type (SEM) et comparées aux données du groupe contrôle. * p-valeur < 0,05; ** p-valeur < 0,01. FRAP, "ferric ion reducing antioxidant power"; TBARS, "thiobarbituric acid reactive substances".

7.4.5.4 Dosage des paramètres du stress oxydant

Aucune modification de la quantité de TBARS hépatiques n'est observée pour le groupe LD des générations F0, F1 et F3 par rapport aux groupes contrôles des générations respectives malgré une légère diminution du taux de TBARS mesurée notamment pour les générations F1 et F3 (p-valeurs=0,9, 0,1 et 0,1 pour les générations F0, F1 et F3 respectivement). Une diminution significative des TBARS hépatiques est observée pour le groupe HD des générations F1 et F3 (p-valeurs=0,001 et 0,03 respectivement), mais non pour la génération F0 (p-valeur>0,9). Aucune modification de la quantité de thiols, FRAP et GPx hépatiques des groupes LD et HD des générations F0, F1 et F3 n'est observée par rapport aux groupes contrôles des générations respectives malgré une diminution dose dépendante de la quantité de thiols pour la génération F1 (p-valeurs=0,8 et 0,1 pour les groupes LD et HD respectivement lorsque comparés au groupe contrôle).

7.4.6 Sur l'expression des gènes hépatiques

7.4.6.1 Analyse générale des données

Pour le groupe LD, le nombre de gènes totaux différentiellement transcrits semble augmenter avec les générations. Le nombre de gènes sur-transcrits reste stable au cours des générations (82, 99 et 92 gènes sur-transcrits pour les générations F0, F1 et F3 respectivement) contrairement au nombre de gènes sous-transcrits qui, lui, augmente avec les générations (98, 132 et 164 gènes sous-transcrits pour les générations F0, F1 et F3 respectivement) (Figure 98). Pour le groupe HD, une diminution du nombre de gènes totaux différentiellement transcrits est observée au fur et à mesure des générations. La quantité de gènes sur-transcrits est légèrement augmentée pour la génération F1 (211 gènes sur-transcrits) par rapport à la génération F0 (176 gènes sur-transcrits) et chute drastiquement pour la génération F3 (65 gènes sur-transcrits). A l'inverse, le nombre de gènes sous-transcrits chute pour la génération F1 (126 gènes sous-transcrits) par rapport à la génération F0 (288 gènes sous-transcrits) et augmente légèrement pour la génération F3 (165 gènes sous-transcrits) par rapport à la génération F1. De manière générale, une quantité supérieure de gènes différentiellement transcrits est retrouvée pour le groupe HD par rapport au groupe LD pour les

générations F0 (180 et 464 gènes différentiellement transcrits pour les groupes LD et HD respectivement) et F1 (231 et 337 gènes différentiellement transcrits pour les groupes LD et HD respectivement). Cette différence n'est plus visible pour la génération F3 (256 et 230 gènes différentiellement transcrits pour les groupes LD et HD respectivement).

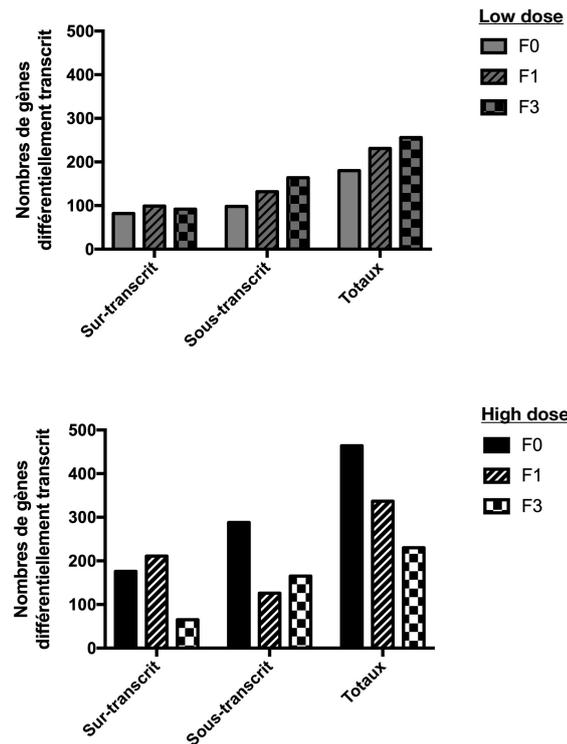


FIGURE 98 – Nombres de gènes hépatiques différentiellement transcrits chez les mâles âgés de 19 semaines pour chaque groupe et générations F0, F1 et F3 (n=10).

7.4.6.2 Modification de l'expression des voies biologiques

Pour le groupe LD, une surexpression des voies de l'inflammation est retrouvée de manière similaire pour les générations F0 et F3 ("*phagosome*", "*HTLV-I infection*", "*herpes simplex infection*", "*graft-versus-host disease*", "*Epstein-Barr virus infection*", "*antigen processing and presentation*", "*allograft rejection*"). De plus, une surexpression des voies métaboliques impactant la synthèse lipidique est retrouvée pour la génération F3 ("*steroid hormone biosynthesis*", "*metabolic pathways*", "*glycerophospholipid metabolism*", "*glycerolipid metabolism*"). Seule la voie "*bile secretion*" est retrouvée surexprimée pour la génération F1.

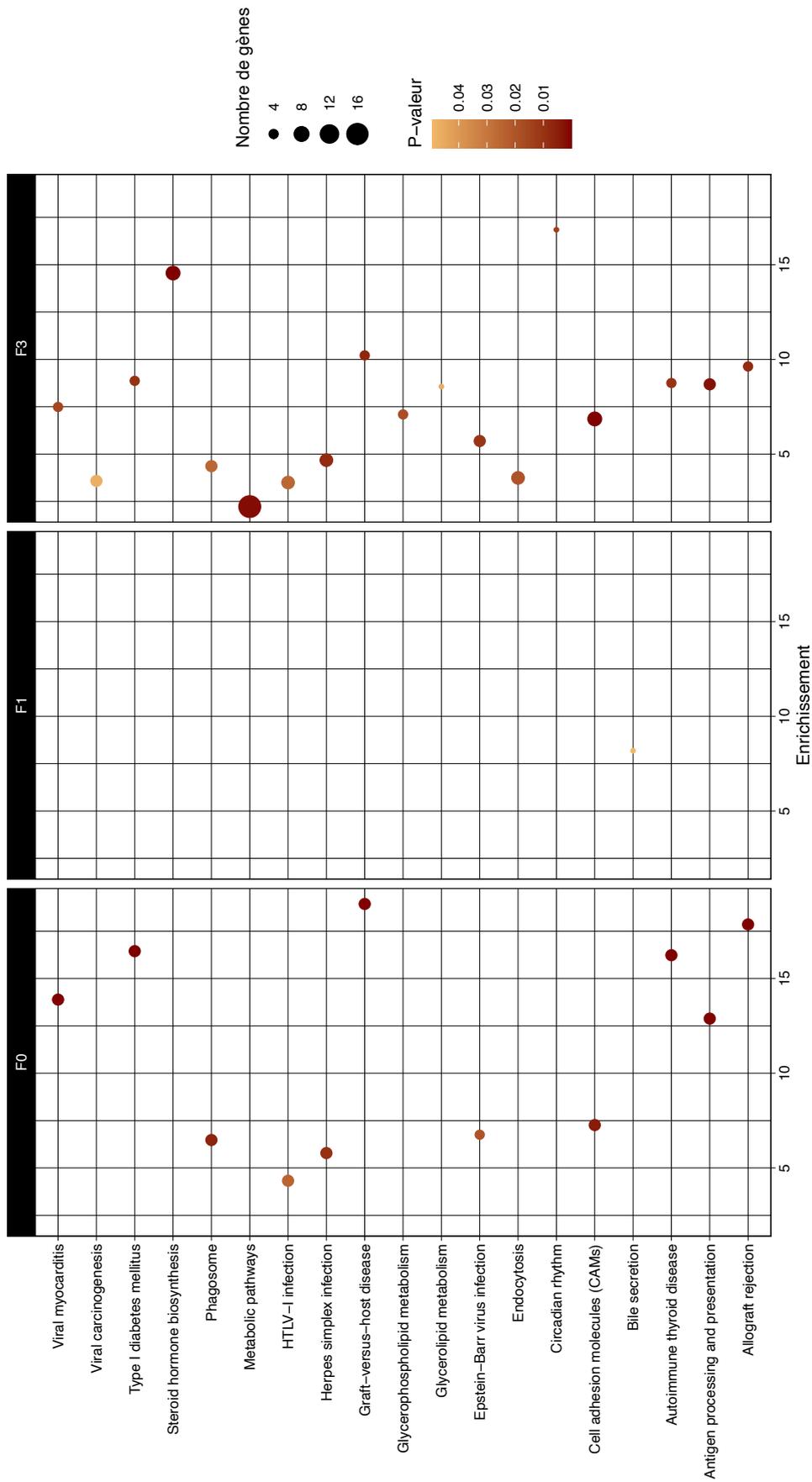


FIGURE 99 – Voies biologiques sur-transcrites pour le groupe "low dose" chez les mâles âgés de 19 semaines pour les générations F0, F1 et F3 (n=10).

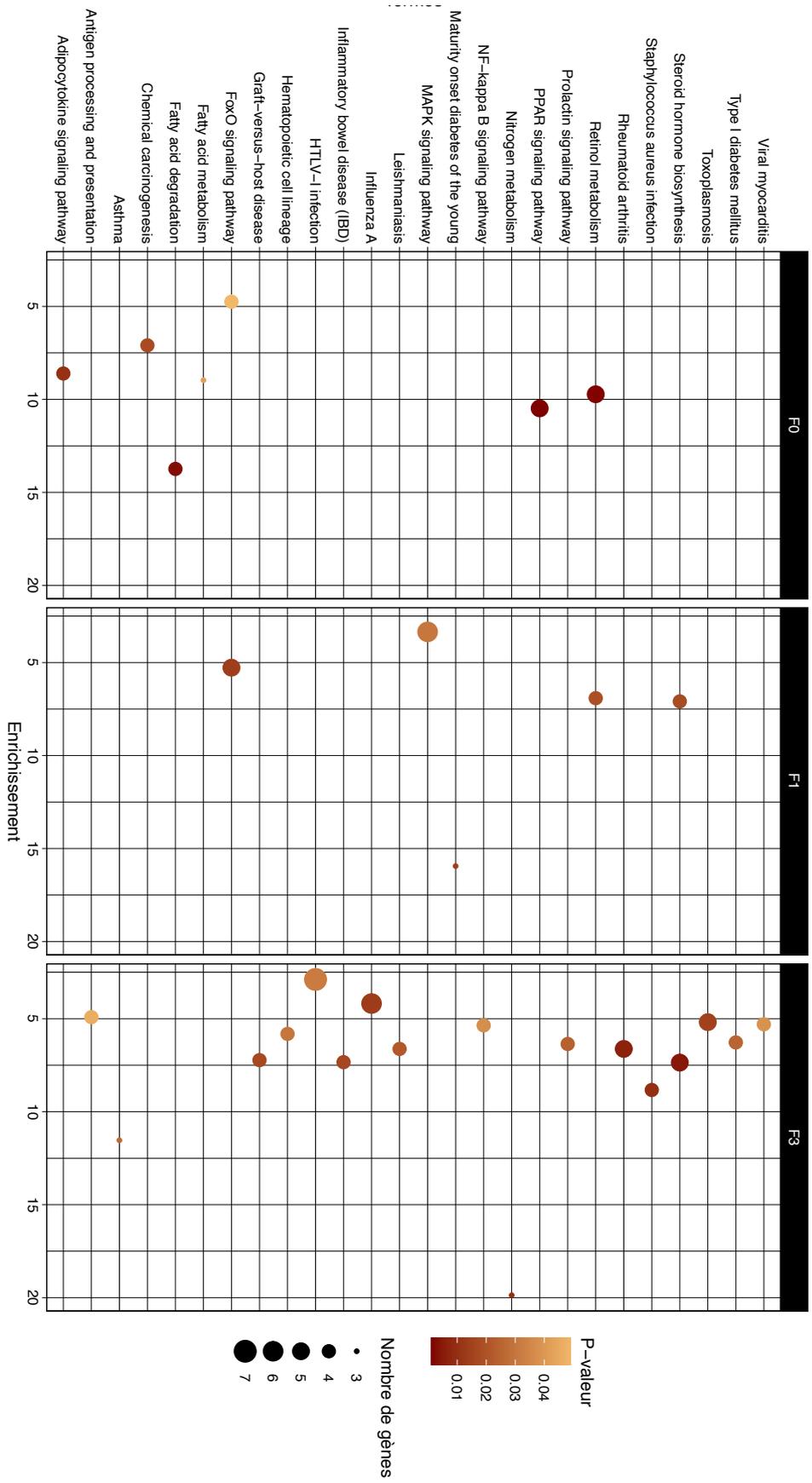


FIGURE 100 – Voies biologiques sous-transcrites pour le groupe "low dose" chez les mâles âgés de 19 semaines pour les générations F0, F1 et F3 (n=10).

Pour les LD de la génération F0, une sous-expression des voies du métabolisme lipidique est observée (*"retinol metabolism"*, *"fatty acid metabolism"*, *"fatty acid degradation"*, *"adipocytokine signaling pathway"*). La génération F1 possède peu de voies sous-transcrites à l'inverse de la génération F3 dont les voies sous-transcrites sont principalement des voies de l'inflammation (*"toxoplasmosis"*, *"Staphylococcus aureus infection"*, *"NF-kappa B signaling pathway"*, *"leishmaniasis"*, *"influenza A"*, *"inflammatory bowel disease"*, *"HTLV-I infection"*, *"graft-versus-host disease"*, *"antigen processing and presentation"*).

Pour le groupe HD, une surexpression des voies d'inflammation sont retrouvées pour la génération F0 (*"NAFLD"*, *"herpes simplex virus"*, *"graft-versus-host disease"*, *"Epstein-Barr virus"*, *"antigen processing and presentation"*, *"allograft rejection"*) ainsi que des voies associées au métabolisme énergétique (*"valine leucine and isoleucine biosynthesis"*, *"type I diabetes mellitus"*, *"glycerine serine and threonine metabolism"*) alors que peu de voies sont surexprimées pour les générations F1 et F3.

De nombreuses voies sont sous-exprimées pour toutes les générations du groupe HD. Pour la génération F0, nombreuses sont les voies qui jouent un rôle dans le métabolisme énergétique (*"retinol metabolism"*, *"metabolic pathways"*, *"insulin resistance"*, *"glycosphingolipid biosynthesis"*, *"glucagon signaling pathway"*, *"fatty acid metabolism"*, *"fatty acid degradation"*, *"cGMP-PKG signaling pathways"*, *"AMPK signaling pathways"*, *"adipocytokine signaling pathway"*) dont la voie *metabolic pathways* regroupe plus de 30 gènes sous-exprimés. Pour la génération F1, les voies sous-exprimées sont encore, mais de manière moins marquante, des voies du métabolisme énergétique (*"type I diabetes mellitus"*, *"retinol metabolism"*, *"metabolic pathways"*, *"fatty acid degradation"*). Également, de nombreuses voies l'inflammation sont retrouvées sous-exprimée pour cette génération (*"herpes simplex infection"*, *"graft-versus-host disease"*, *"antigen processing and presentation"*, *"allograft rejection"*). De même, certaines de ces voies continuent à être sous-exprimées pour la génération F3 HD au niveau des voies du métabolisme énergétique (*"tyrosine metabolism"*, *"type I diabetes mellitus"*, *"tryptophan metabolism"*, *"steroid hormone biosynthesis"*, *"retinol metabolism"*) et de voies de l'inflammation (*"tuberculosis"*, *"toxoplasmosis"*, *"systemic lupus erythematosus"*, *"Staphylococcus aureus infection"*, *"leishmaniasis"*, *"intestinal immune network"*).

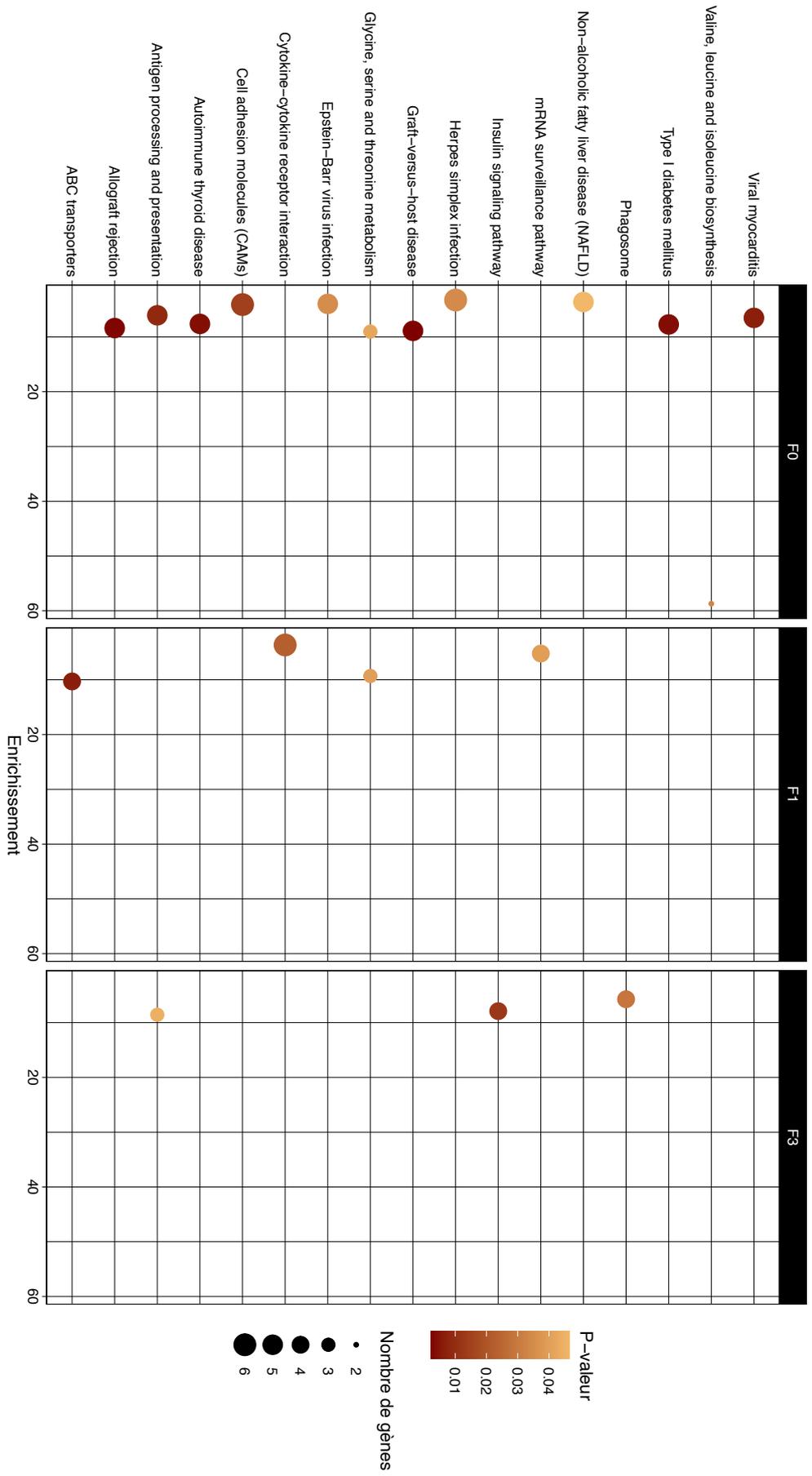


FIGURE 101 – Votes biologiques sur-transcrites pour le groupe "high dose" chez les mâles âgés de 19 semaines pour les générations F0, F1 et F3 (n=10).

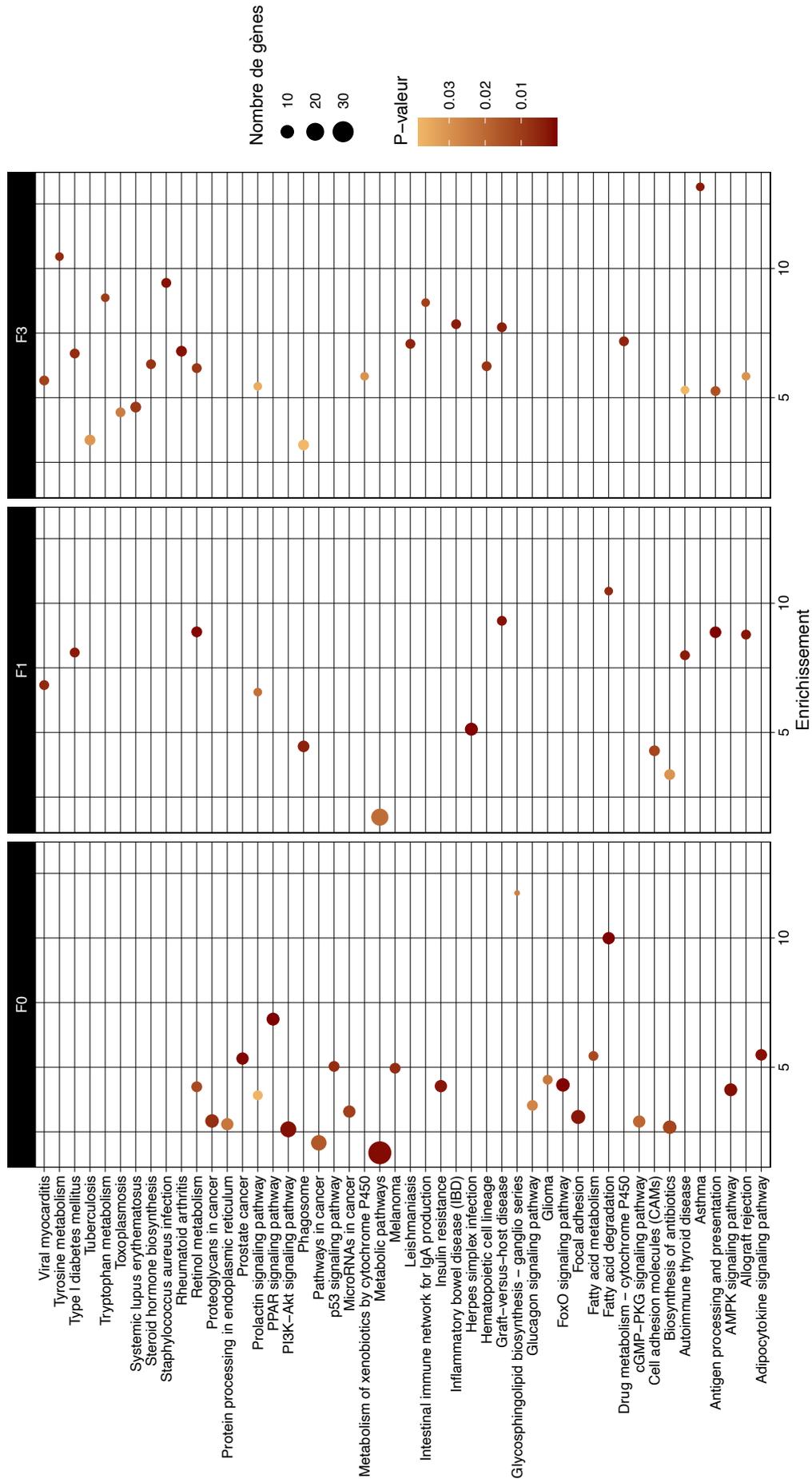


FIGURE 102 – Voies biologiques sous-transcrites pour le groupe "high dose" chez les mâles âgés de 19 semaines pour les générations F0, F1 et F3 (n=10).

for IgA production", "inflammatory bowel", "hematopoietic cell lineage", "antigen processing and presentation", "allograft rejection") dont certaines voies sont communes à celles sous-transcrites en LD pour cette même génération. A l'inverse, il apparait une sous-expression des voies biologiques du métabolisme des xénobiotiques ("metabolism of xenobiotics by cytochrome P450", "drug metabolism - cytochrome P450"). La sous-expression constante des voies biologiques retinol metabolism et prolactin signaling pathway au cours des générations est également observée.

De manière générale, les voies surexprimées pour la génération F0 sont assez similaires entre les groupes LD et HD, cependant une diminution des voies surexprimées est observée pour le groupe HD tandis qu'une augmentation du nombre de voies sur et sous-exprimées avec les générations est observée pour le groupe LD (Figure 103).

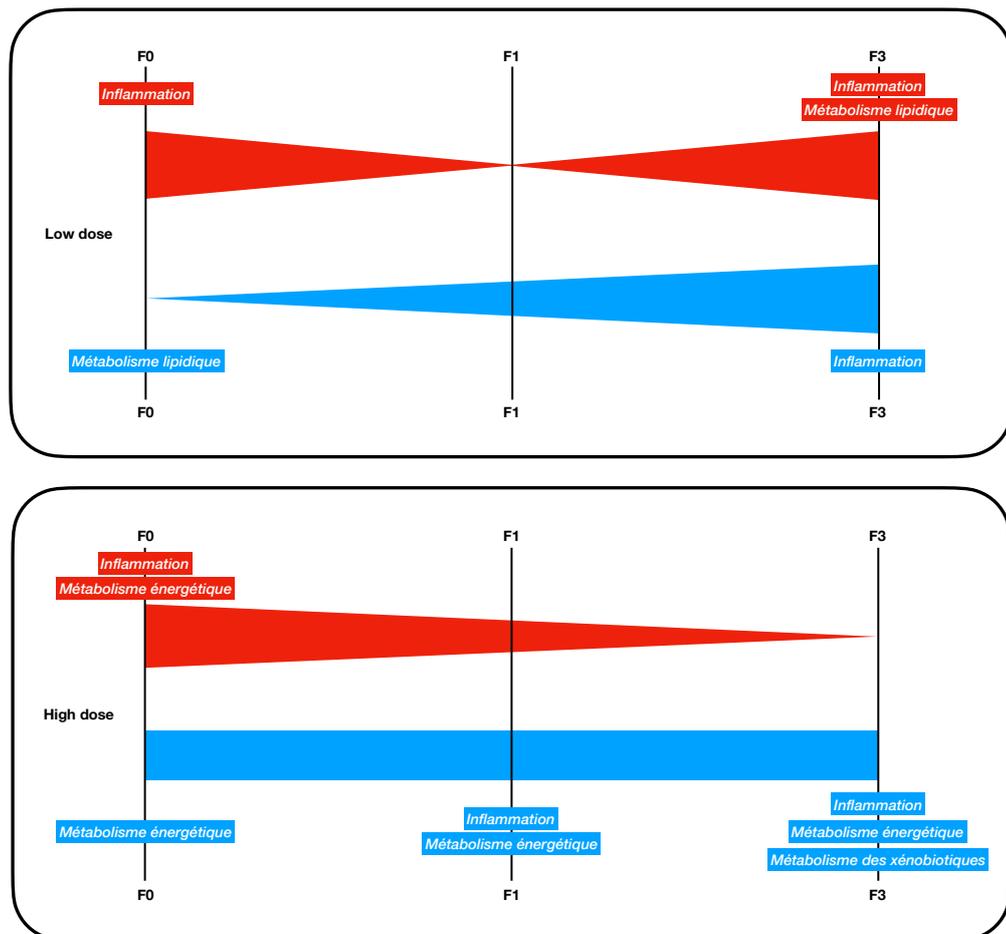


FIGURE 103 – Schéma récapitulatif de la quantité de voies biologiques hépatiques sur (en rouge) ou sous (en bleu) transcrites chez les mâles âgés de 19 semaines pour les deux groupes et les générations F0, F1 et F3.

7.4.6.3 Modification de la transcription des gènes associés aux diabètes

Le nombre de gènes hépatiques différentiellement transcrits associés aux diabètes est globalement similaire entre les générations (32, 24 et 33 pour les générations F0, F1 et F3 respectivement) (Figure 104). Cependant les gènes différentiellement transcrits sont différents d'une génération à l'autre et d'un groupe d'exposition à l'autre. De nombreux gènes sont retrouvés associés aux diabètes de type 1 et 2; seul un gène est associé au pré-diabète, RT1-DA (pour RT1 class II, locus Ba) codant pour une protéine jouant un rôle dans la liaison des antigènes, et est retrouvé significativement sous-transcrit pour les LD et HD de la génération F3.

Certains patterns intéressants sont cependant observés. C'est le cas de HSP90AA1 (pour "*heat shock protein 90 alpha family class A member 1*") qui est différentiellement transcrit pour tous les groupes d'expositions et toutes les générations. Il est cependant significativement sous-transcrit pour les générations F0 et F1 puis significativement sur-transcrit pour la génération F3. Ce gène code pour une protéine chaperonne évitant la dimérisation des récepteurs nucléaires ou cytoplasmique et donc régulant la transcription de différents gènes. Le gène NQO1 (pour "*NADPH quinone dehydrogenase 1*") est retrouvé sur-transcrit pour tous les groupes d'expositions et toutes les générations excepté le groupe F1 LD. Ce gène code pour une protéine régulant le stress oxydant cellulaire. Elle joue également un rôle dans la biosynthèse de la vitamine K. De la même manière, le gène codant pour un récepteur aux estrogènes, ESR1 (pour "*estrogen receptor 1*"), est retrouvé significativement sous-transcrit pour tous les groupes d'exposition des générations F0 et F3 et significativement sur-transcrit pour les F1 LD uniquement.

Il est également retrouvé des patterns similaires de transcription sur plusieurs générations. C'est le cas de nombreux gènes :

- ABCB1B (pour "*ATP-binding cassette subfamily B (MDR/TAP) member 1B*"), codant pour un transporteur actif, et plus précisément de type protéines d'efflux des xénobiotiques, est significativement sous-transcrite pour les générations F0 et F3 LD.
- ABCC9 (pour "*ATP-binding cassette subfamily C member 9*"), codant pour une sous unité des canaux potassiques sensibles à l'ATP, est significativement

- sous-transcrit pour les générations F0 et F1 HD.
- CDKN1A (pour "*cyclin dependent kinase inhibitor 1A*"), codant pour une protéine nécessaire à la formation des microtubules du cytosquelette, est significativement sous-transcrit pour les générations F0 et F1 LD.
 - HMGCR (pour "*3-hydroxy-3-methylglutaryl-CoA reductase*"), codant pour une protéine jouant un rôle dans l'homéostasie du cholestérol cellulaire, est significativement sous-transcrit pour les générations F0 et F1 HD.
 - IGFBP1 (pour "*insulin-like growth factor binding protein 1*"), codant pour une protéine fixant les IGF, est significativement sous-transcrit pour les générations F0 et F3 LD.
 - LPL (pour "*lipoprotein lipase*"), codant pour une enzyme du métabolisme lipidique catalysant l'hydrolyse des TAG des chylomicrons et VLDL (pour "*very low density lipoprotein*"), est significativement sous-transcrit pour les générations F0 et F3 des groupes LD et HD
 - MME (pour "*membrane metallo-endopeptidase*"), codant pour une protéine de la protéolyse, est significativement sous-transcrit pour les générations F1 et F3 du groupes LD
 - NAMPT (pour "*nicotinamide phosphoribosyltransferase*"), codant pour une protéine jouant un rôle de cytokine immunomodulante mais également en tant qu'adopkine aux propriétés anti-diabétiques, est significativement sous-transcrit pour les générations F0, F1 et F3 du groupes HD
 - NR0B2 (pour "*nuclear receptor subfamily 0 group B member 2*"), codant pour une protéine responsable du transport des acides biliaires, est retrouvé significativement sur-transcrit pour les générations F0 et F1 LD ainsi que F0 et F3 HD.

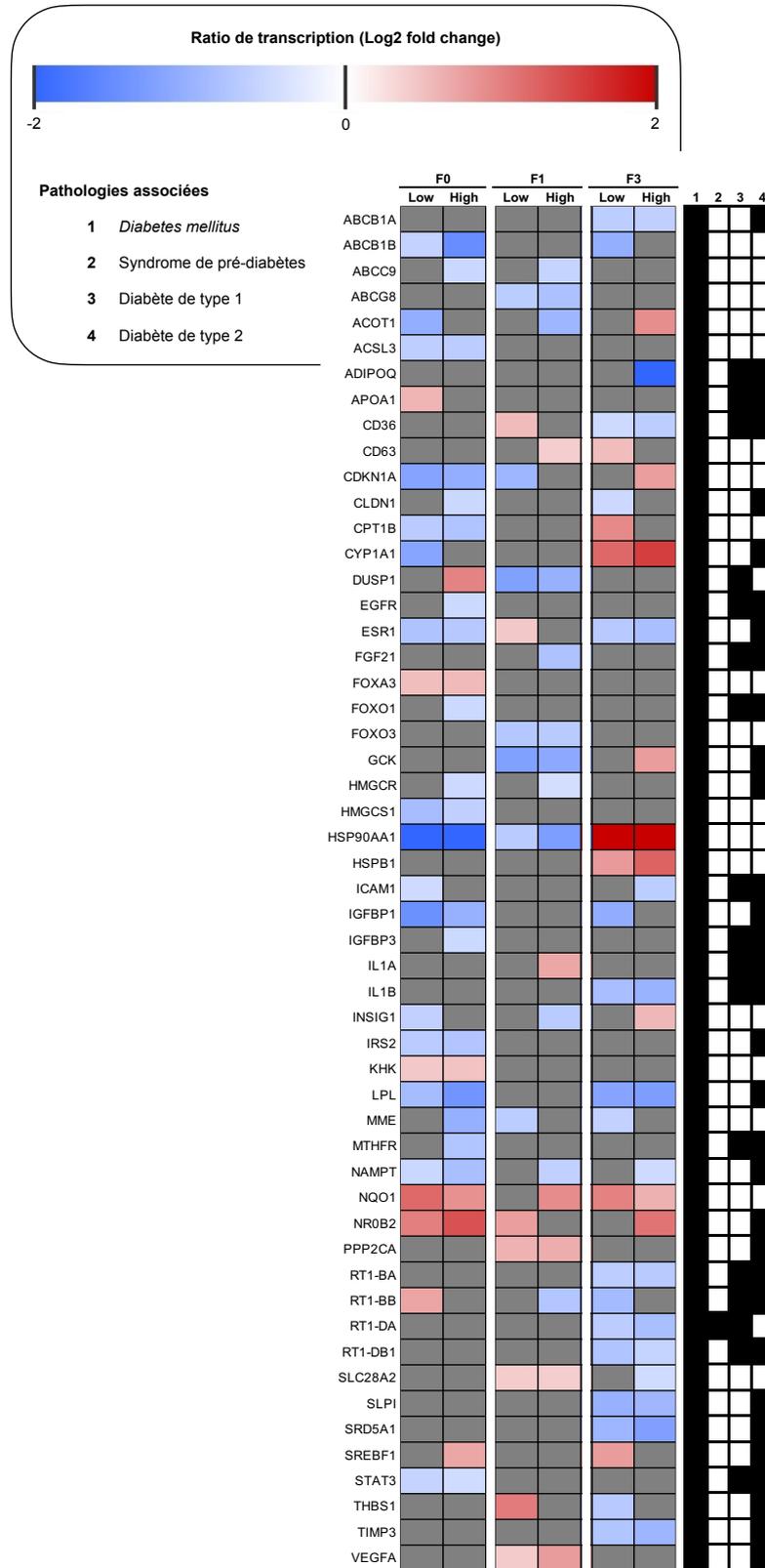


FIGURE 104 – "Heat map" de la modification de la transcription des gènes associés aux diabètes par rapport au groupe contrôle chez les mâles âgés de 19 semaines pour les générations F0, F1 et F3.

7.4.6.4 Modification de la transcription des gènes associés aux pathologies hépatiques

Le nombre de gènes hépatiques différentiellement transcrits associés aux pathologies hépatiques est globalement similaire entre les générations (55, 49 et 63 pour les générations F0, F1 et F3 respectivement) (Figure 105). Cependant les gènes différentiellement transcrits sont différents d'une génération à l'autre et d'un groupe d'exposition à l'autre. De manière générale, peu de gènes différentiellement transcrits semblent liés à une hépatite chronique ou une hépatite animale, ainsi qu'à une insuffisance hépatique. Seul 1 gène différentiellement transcrit est associé à la NAFLD, c'est le gène NR1H4 (pour "*nuclear receptor subfamily 1 group H member 4*") qui est significativement sous-transcrit pour le groupe HD de la génération F0. Ce gène code pour une protéine aux multiples fonctions allant de l'activité de facteur de transcription à une activité de récepteur aux acides biliaires et dont les fonctions sont liées à l'homéostasie lipidique. De même, 1 seul gène est retrouvé différentiellement transcrit et associé à la NASH, c'est le gène APOA1 (pour "*apolipoprotein A1*"), significativement sur-transcrit pour le groupe LD de la génération F0. L'apolipoprotéine A1 est une protéine constituante des HDL (pour "*high density lipoprotein*") et permet l'absorption des lipides cellulaires par la lipoprotéine du même nom.

Certains gènes sont retrouvés différentiellement transcrits pour tous les groupes de toutes les générations. C'est le cas de ESR1, HSP90AA1 et NQO1 qui sont de nouveau retrouvés comme étant des gènes associés aux pathologies hépatiques. Mais c'est aussi le cas d'autres gènes tel que CSMD1 (pour "*CUB and Sushi multiple domains 1*") qui sont retrouvés significativement sous-transcrits pour tous les groupes d'expositions de toutes les générations. Ce gène code pour une protéine du système du complément permettant au système immunitaire et aux cellules de s'identifier entre-elles et d'éviter les réactions auto-immunes. Le gène PAQR9 (pour "*progesterin and adipoQ receptor family member 9*") est retrouvé significativement sous-transcrit pour tous les groupes de toutes les générations excepté F1 LD. Ce gène code pour une protéine constituante d'un RCPG et semble jouer un rôle dans la cétogenèse. Le gène PRLR (pour "*prolactin receptor*"), codant pour le récepteur à la prolactine,

est retrouvé différenciellement transcrit pour tous les groupes et toutes les générations. Cependant, il est retrouvé sur-transcrit pour le groupe LD des générations F0 et F1 puis sous transcrit pour la génération F3 et sous transcrit pour le groupe HD de toutes les générations. Le gène SDS (pour "*serine dehydratase*") est également retrouvé significativement sur-transcrit pour tous les groupes des générations F0 et F1 puis sous-transcrit pour le groupe LD de la génération F3 uniquement. Ce gène code pour une enzyme de la gluconéogenèse dégradant la sérine en pyruvate et NH_3 . Enfin, le gène UBD (pour "*ubiquitin D*") est retrouvé fortement sur-transcrit pour tous les groupes d'expositions de toutes les générations. L'ubiquitine D est une protéine se fixant à d'autres protéines permettant de les marquer et d'entraîner leur élimination.

Il est également retrouvé des patterns similaires de transcription sur plusieurs générations. Certains gènes associés aux diabètes sont retrouvés également associés aux pathologies hépatiques tel que les gènes ABCB1B, CDKN1A, HMGCR, IGFBP1 et LPL. Cependant, d'autres gènes présentent des patterns tout aussi intéressants :

- AADAT (pour "*aminoadipate aminotransferase*"), codant pour une transaminase localisée dans la mitochondrie hépatique et jouant un rôle dans la dégradation de la lysine, est retrouvé significativement sous-transcrit pour le groupe HD des générations F0 et F3.
- ALDH1B1 (pour "*aldehyde dehydrogenase 1 family member B1*"), codant pour une protéine jouant un rôle dans le métabolisme de l'alcool et le métabolisme lipidique, est retrouvé significativement sous-transcrit pour le groupe HD des générations F1 et F3.
- APOF (pour "*apolipoprotein F*"), codant pour l'apolipoprotéine F associé principalement aux LDL (pour low density lipoprotein) et permettant donc la régulation du transport du cholestérol, est retrouvé significativement sur-transcrit pour le groupe LD des générations F0 et F1.
- BTG2 (pour "*BTG anti-proliferative factor 2*"), codant pour une protéine anti-proliférative et jouant un rôle dans la dépolarisation mitochondriale, est retrouvé significativement sous-transcrit pour le groupe LD des générations F0 et F1.

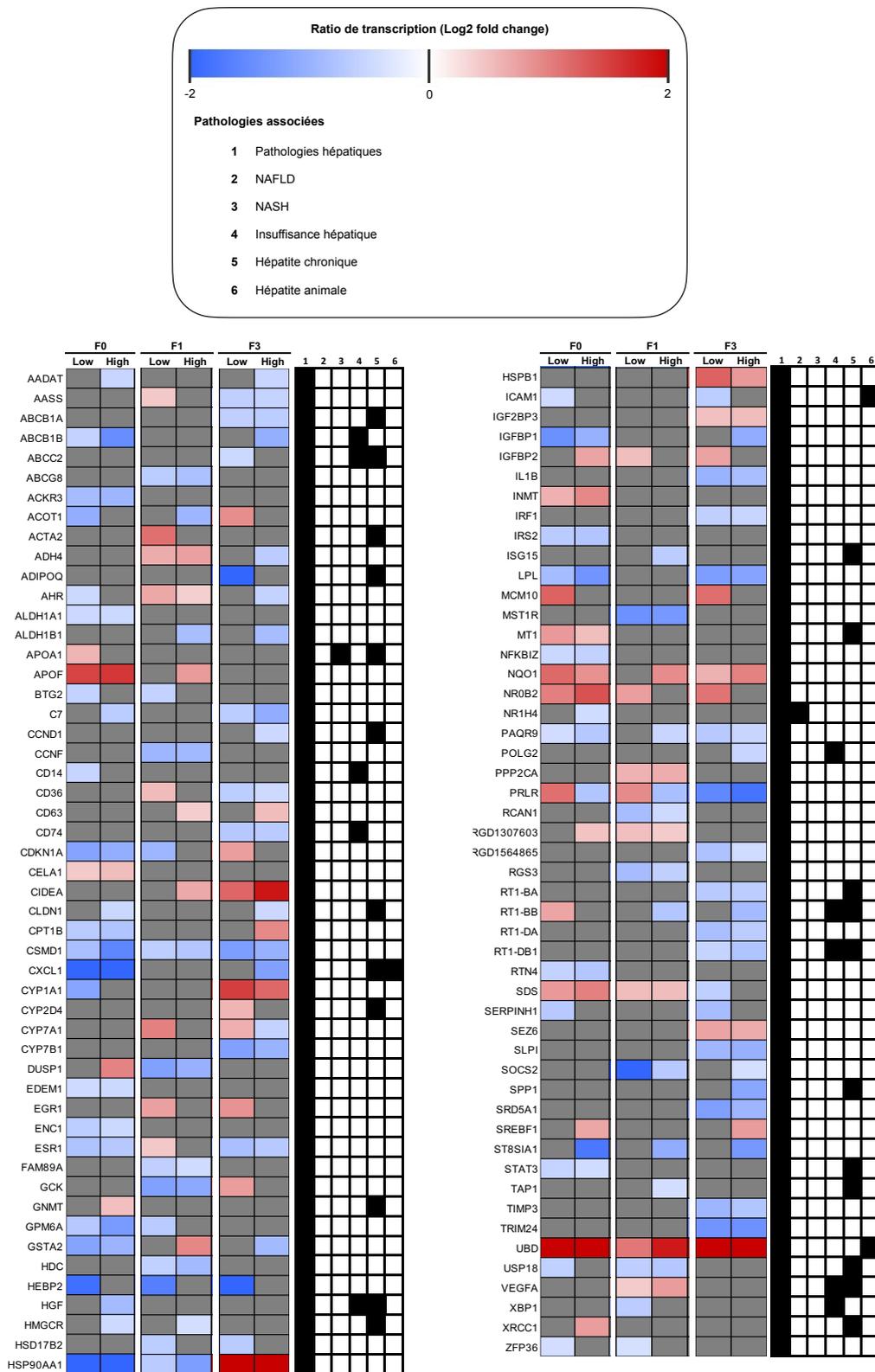


FIGURE 105 – "Heat map" de la modification de la transcription des gènes associés aux pathologies hépatiques par rapport au groupe contrôle chez les mâles âgés de 19 semaines pour les générations F0, F1 et F3.

- C7 (pour "*complement 7*"), codant pour une protéine du système du complément et jouant donc un rôle au niveau immunitaire, est retrouvé significativement sous-transcrit pour le groupe HD des générations F1 et F3.
- CD63, codant pour une protéine responsable de la formation de vésicule de relargage, est retrouvé significativement sur-transcrit pour le groupe HD des générations F1 et F3.
- CIDEA (pour "*cell death-inducing DFFA-like effector A*"), codant pour une protéine se liant aux gouttelettes lipidiques et favorisant le stockage de lipide, est retrouvé significativement sur-transcrit pour le groupe HD des générations F1 et F3.
- CLDN1 (pour "*claudin 1*"), codant pour une protéine composant les jonctions serrées, est retrouvé significativement sous-transcrit pour le groupe HD des générations F0 et F3.
- CXCL1 (pour "*C-X-C chemokine ligand 1*"), codant pour une chemokine attirant les cellules immunitaires, est retrouvé significativement sous-transcrit pour le groupe HD des générations F0 et F3.
- CYP7A1 (pour "*cytochrome P450 family 7 subfamily A member 1*"), codant pour une CYP450 jouant un rôle dans la dégradation du cholestérol afin de former les acides biliaires, est retrouvé significativement sur-transcrit pour le groupe LD des générations F1 et F3.
- EGR1 (pour "*early growth response 1*"), codant pour un régulateur de la transcription et nécessaire à la prolifération des hépatocytes, est retrouvé significativement sur-transcrit pour le groupe LD des générations F1 et F3.
- GPM6A (pour "*glycoprotein M6A*"), codant pour une protéine dont le rôle au niveau hépatique reste encore inexploré, est retrouvé significativement sous-transcrit pour le groupe LD des générations F0 et F1.
- GSTA2 (pour "*glutathione S-transferase alpha 2*"), codant pour un catalyseur de la conjugaison du glutathion et jouant un rôle dans la dégradation des xénobiotiques, est retrouvé significativement sous-transcrit pour le groupe HD des générations F0 et F3 et sur-transcrit pour le même groupe de la génération F1.
- HEBP2 (pour "*heme binding protein 2*"), codant pour une protéine régulant

- négativement le potentiel membranaire mitochondrial, est retrouvé significativement sous-transcrit pour le groupe LD des générations F0, F1 et F3.
- HSD17B2 (pour "*hydroxy(17-beta)dehydrogenase 2*"), codant pour une enzyme dégradant l'estradiol, la testostérone et la dihydrotestostérone, est retrouvé significativement sous-transcrit pour le groupe LD des générations F1 et F3.
 - ICAM1 (pour "*intercellular adhesion molecule 1*"), codant pour une protéine aussi appelée CD54 et permettant la migration des cellules immunitaires dans les tissus, est retrouvé significativement sous-transcrit pour le groupe LD des générations F0 et F3.
 - IGFBP2 (pour "*insulin-like growth factor binding protein 2*"), codant pour une protéine fixant les IGF, est retrouvé significativement sur-transcrit pour le groupe LD des générations F1 et F3.
 - MCM10 (pour "*minichromosome maintenance replication 10 replication initiation factor*"), codant pour une protéine initiant la réplication de l'ADN, est retrouvé significativement sur-transcrit pour le groupe LD des générations F0 et F3.
 - RGD1307603 ou GSTP3 (pour "*glutathione S-transferase pi 3*"), codant pour un catalyseur de la conjugaison du glutathion et jouant un rôle dans la dégradation des xénobiotiques, est retrouvé significativement sur-transcrit pour le groupe HD des générations F0 et F1.
 - RT1-BB (pour "*RT1 class II locus Bb*"), codant pour une protéine jouant un rôle dans la présentation d'antigènes, est retrouvé significativement sous-transcrit pour le groupe HD des générations F1 et F3.
 - SERPINH1 (pour "*serpin family H member 1*"), codant pour une protéine liant le collagène et permettant la régulation des endopeptidases, est retrouvé significativement sous-transcrit pour le groupe LD des générations F0 et F3.
 - SOCS2 (pour "*suppressor of cytokine signaling 2*"), codant pour une protéine jouant un rôle dans la modulation de la réponse des IGF, est retrouvé significativement sous-transcrit pour le groupe HD des générations F1 et F3.
 - SREBF1 (pour "*sterol regulatory element binding transcription factor 1*"), codant pour une protéine chaperonne de récepteurs de transcription jouant un rôle

- dans la biosynthèse de cholestérol et l'homéostasie lipidique, est retrouvé significativement sur-transcrit pour le groupe HD des générations F0 et F3.
- ST8SIA1 (pour "*ST8 alpha-N-acetyl-neuraminide alpha-2,8-sialyltransferase 1*"), codant pour une protéine jouant un rôle dans la glycosylation des glycosphingolipides, est retrouvé significativement sous-transcrit pour le groupe HD des générations F0, F1 et F3.
 - USP18 (pour "*ubiquitin specific peptidase 18*"), codant pour une protéine permettant de séparer l'ubiquitine des protéines marquées, est retrouvé significativement sous-transcrit pour le groupe LD des générations F0 et F1.
 - ZFP36 (pour "*zinc finger protein 36*"), codant pour un inhibiteur de la synthèse de cytokine inflammatoire, est retrouvé significativement sous-transcrit pour le groupe LD des générations F0 et F1.

7.4.6.5 Modification de la transcription des gènes associés aux pathologies métaboliques

Comme précédemment, le nombre de gènes hépatiques différentiellement transcrits associés aux pathologies métaboliques est globalement similaire entre les générations (22, 21 et 23 pour les générations F0, F1 et F3 respectivement) (Figure 106). Cependant les gènes différentiellement transcrits sont différents d'une génération à l'autre et d'un groupe d'exposition à l'autre. De manière générale de nombreux gènes différentiellement transcrits semblent être retrouvés dans l'insulino-résistance et les troubles du stockage des lipides. Un seul gène est retrouvé différentiellement transcrit pour quasiment tous les groupes de toutes les générations. C'est NQO1, de nouveau retrouvé comme étant un gène associé aux troubles du stockage des lipides.

Il est également retrouvé des patterns similaires de transcription sur plusieurs générations. Certains gènes différentiellement transcrits et associés aux diabètes et/ou aux pathologies hépatiques sont de nouveau retrouvés, mais cette fois sont associés aux pathologies hépatiques. C'est le cas des gènes ABCB1B, ALDH1B1, CLDN1, HMGCR, ICAM1, IGFBP2, IL7, LPL, NAMPT, NR0B2 et SREBF1. Seul le gène NR4A1 (pour "*nuclear receptor subfamily 4 group A member 1*") n'est retrouvé qu'associé aux troubles métaboliques et plus précisément à la résistance à l'insuline. Ce gène permet

la production d'une protéine participant à l'homéostasie énergétique par la séquestration d'une kinase dans le noyau entraînant alors une diminution de l'activation cytoplasmique de l'AMPK ("adenosine monophosphate activated protein kinase"). Ce gène est retrouvé significativement sur-exprimé pour le groupe HD des générations F0 et F1.

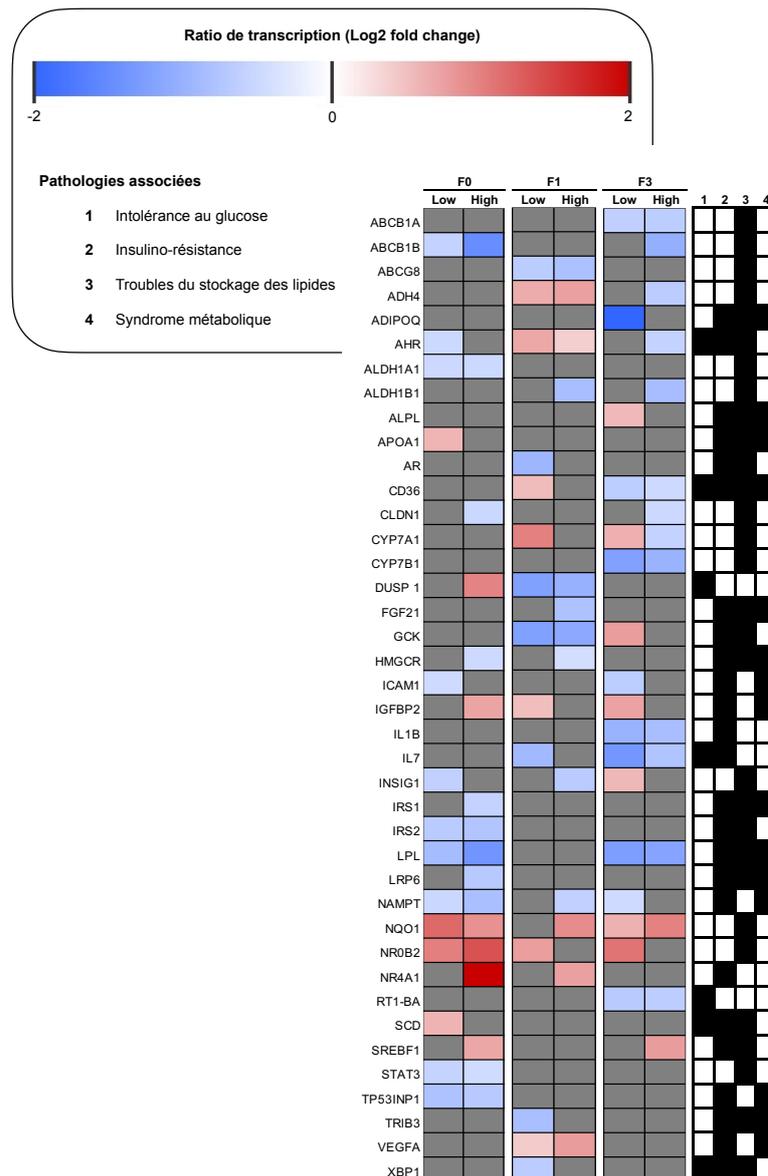


FIGURE 106 – "Heat map" de la modification de la transcription des gènes associés aux pathologies métaboliques par rapport au groupe contrôle chez les mâles âgés de 19 semaines pour les générations F0, F1 et F3.

Chapitre 8

Métabolisme énergétique - Discussion

L'impact des PE sur le métabolisme est de plus en plus étudié, notamment autour de la thématique de l'obésité et du développement du tissu adipeux (Heindel *et al.*, 2015; Darbre, 2017; Hua *et al.*, 2019; Boudalia *et al.*, 2021) mais également, plus récemment, sur la gestion des substrats énergétiques et l'apparition du diabète de type 2 (Meng *et al.*, 2018; Guo *et al.*, 2021; Morimoto *et al.*, 2022; Gong *et al.*, 2023). Notre étude nous a permis d'explorer l'impact des PE sur le métabolisme : l'étude de la génération F0 a permis d'explorer l'exposition chronique à un cocktail de PE à dose environnementale, permettant une exploration plus proche de la réalité. De plus, une exploration à 3 et 19 semaines a permis d'évaluer l'évolution des modifications métaboliques dues aux PE, mais également l'impact des PE sur l'allaitement et le métabolisme des rats sevrés, domaine peu étudié mais ayant des conséquences importantes sur le développement (Quiclet *et al.*, 2022). Enfin, l'impact transgénérationnel des PE sur le métabolisme a pu être étudié grâce à la génération F3. Sur toutes ces générations, une analyse poussée de la physiologie hépatique allant de l'histologie, en passant par l'activité mitochondriale et le transcriptome, ainsi que l'étude de la physiologie pancréatique et des différents paramètres glycémiques ont été faites. Cette évaluation de l'impact transgénérationnel des PE sur le métabolisme du rongeur n'a, à notre connaissance, jamais été réalisée.

8.1 PE et prise de poids : pas de corrélation avec la prise alimentaire

Certaines études semblent montrer un lien entre l'exposition aux PE et la prise de poids (qui n'est qu'un indice global et qui ne reflète pas la composition corporelle) notamment lors d'exposition péri-natale (Akingbemi *et al.*, 2004; Hu *et al.*, 2016a;

Ahsan *et al.*, 2018; Meng *et al.*, 2018; Meng *et al.*, 2019; Boudalia *et al.*, 2021), tandis que d'autres ne semblent montrer qu'un faible impact des PE sur la prise de poids et de masse grasse chez le rongeur que ce soit pour le BPA ou BPS (Chitra *et al.*, 2003; Kabuto *et al.*, 2004; Neigishi *et al.*, 2004; Nikaido *et al.*, 2004; Shi *et al.*, 2017; Meng *et al.*, 2018; Shi *et al.*, 2018; Tucker *et al.*, 2018; Zhang *et al.*, 2018a; Dai *et al.*, 2021; Jeminiwana *et al.*, 2021; Kaimal *et al.*, 2021; Darghouti *et al.*, 2022) et le TCS (Kumar *et al.*, 2009; Zorilla *et al.*, 2009; Cao *et al.*, 2018; Huang *et al.*, 2020; Ma *et al.*, 2020; Hao *et al.*, 2022b; Weber *et al.*, 2022). Dans notre étude, lors du suivi des rats exposés directement (F0) et indirectement (F1) aux PE, il a été observé une augmentation significative de la consommation de nourriture sans modification de la prise de poids chez les mâles et les femelles, et ce jusqu'à l'âge adulte. Les PE semblent donc modifier le comportement alimentaire sans prise de poids associée. Cette absence de prise de poids pourrait être due à une augmentation de l'activité. Il est intéressant de noter qu'une augmentation de l'activité motrice chez les mâles avait été retrouvée pour les groupes LD et HD de la génération F0 lors des tests comportementaux, mais pas pour la génération F1. Cependant, il serait intéressant de tester cette hypothèse à l'aide de vidéo-tracking afin d'analyser l'activité quotidienne des rats exposés aux PE.

L'impact des PE sur la modification du comportement alimentaire a été jusqu'ici peu étudié (Walley *et al.*, 2018). Ce comportement spécifique est médié par le noyau arqué situé au niveau de l'hypothalamus. Cette partie du cerveau est composée de neurones à neuropeptides Y (NPY), à AgRP ("*agouti-gene related peptide*"), à POMC et à CART ("*cocaine and amphetamine regulated transcript*"). Le noyau arqué projette ses neurones vers le noyau hypothalamique dorsomédial, vers l'aire périfornicale ainsi que vers le noyau paraventriculaire. Des études ont récemment montré un impact des PE sur l'expression des neurones à NPY et à POMC. Ainsi, Marraudino *et al.* (2021) ont montré une diminution de l'expression des neurones à NPY au niveau du noyau arqué et des zones de projection dans l'hypothalamus chez la souris adulte exposée à 5 ou 500 $\mu\text{g}/\text{kg}$ de BPA. Hua *et al.* (2019) ont également montré une diminution de l'expression des neurones à POMC au niveau du noyau arqué chez des rats exposés à 8 $\text{mg}/\text{kg}/\text{j}$ de TCS, ainsi qu'une hyperphagie et une prise de poids. Dans notre étude, il est intéressant de noter que le volume de la matière grise

paraventriculaire, zone de projection des neurones du noyau arqué, a été retrouvée augmentée de 15 % et 10 % pour les groupes F0 LD et HD respectivement mais pas pour la génération F1 (voir "Cerveau, neuroendocrinologie et comportement"). Une modification de l'expression ou de l'activité des neurones à POMC et NPY apparaît être une hypothèse intéressante pour expliquer cette modification du comportement alimentaire au moins pour la génération F0.

L'ensemble de ces neurones est sensible aux hormones, et notamment à la ghréline et la leptine qui ont pour rôle d'augmenter et de diminuer respectivement la prise alimentaire. La ghréline est synthétisée notamment par l'antre de l'estomac (partie inférieure) et sa synthèse est stimulée en cas de jeûne court, ainsi que par la synthèse de GHRH et de T₄ notamment. Il est à noter qu'aucune modification de la concentration sérique en T₄ libre n'a été retrouvée pour les mâles des générations F0 et F1 à l'âge adulte (voir "Cerveau, neuroendocrinologie et comportement"). A l'inverse, la ghréline est inhibée en présence d'insuline et d'augmentation de la glycémie. Lors du dosage de l'insulinémie à jeun chez les mâles F0 et F1 et des mesures de la glycémie à jeun chez les mâles et femelles F0 et F1, aucune modification n'a été retrouvée, excepté une augmentation significative de l'insulinémie pour la génération F1 adulte. Cette seule modification hormonale ne permet cependant pas d'expliquer cette modification de la prise alimentaire sans prise de poids. Dans notre étude, l'impact des PE sur le taux de ghréline circulante semble donc peu probable. De plus, peu d'études rendent compte du taux de ghréline après exposition à des PE. Ainsi, Ferguson *et al.* (2011) n'ont trouvé aucune modification de ce taux après exposition de rats *in utero* au BPA (2,5 et 25 µg/kg/j).

Une autre hormone pouvant être responsable d'une modification du comportement alimentaire est la leptine. Elle est synthétisée par le tissu adipeux blanc à la suite d'un apport en nourriture afin d'inhiber la sensation de faim et donc permettre un contrôle du stockage des acides gras et du développement du tissu adipeux notamment (Norman & Henry, 2015). Il a été retrouvé dans la littérature une augmentation de la concentration en leptine circulante liée à un développement du tissu adipeux lors d'exposition *in vitro* (Héliès-Toussaint *et al.*, 2014) ou *in vivo* aux PE (Alonso-Magdalena *et al.*, 2010; Hua *et al.*, 2019). Ces résultats ne semblent pas être retrouvés dans toutes les études (Ferguson *et al.*, 2011; Ramzkov Tetzlaff *et al.*,

2020; Szkudelska *et al.*, 2021). Ici, une tendance à la diminution de la quantité de tissu adipeux a été retrouvée pour les générations F0 et F1 à l'âge adulte. Dans le cas de notre étude, il semble donc peu probable qu'une modification de la concentration en leptine circulante soit responsable d'une modification du comportement alimentaire.

D'autres récepteurs hormonaux sont également retrouvés sur le noyau arqué. C'est le cas des récepteurs à la prolactine, une hormone sécrétée par l'adénohypophyse qui ne joue pas qu'un rôle dans le développement de la glande mammaire comme en atteste des études récentes (Freeman *et al.*, 2000; Ben-Jonathan *et al.*, 2008; Bernard *et al.*, 2019; Lopez-Vicchi *et al.*, 2020; Ceré *et al.*, 2021) mais qui pourrait jouer un rôle sur la prise alimentaire. Depuis plusieurs années déjà, de nombreuses études ont montré une augmentation de la prise alimentaire chez le rongeur de manière concentration dépendante à la prolactine (Gerardo-Gettens *et al.*, 1989; Heil, 1999; Naef *et al.*, 2007). La présence de récepteurs à la prolactine et son rôle précis sur le noyau arqué sont cependant toujours en cours d'étude, même si une première étude a permis d'établir le rôle important de la prolactine dans l'activation des neurones du noyau arqué (Georgescu *et al.*, 2020). De plus, la prolactine pourrait insensibiliser le noyau arqué à l'action de la leptine, c'est à dire annuler la diminution de la prise alimentaire (Lopez-Vicchi *et al.*, 2020). La question de l'impact des PE sur la régulation de la prolactine pose donc question. Il a été montré que le DES, perturbateur endocrinien médicamenteux retiré du marché dans les années 70, augmente la synthèse de prolactine mais chez les rats mâles uniquement (Maeda *et al.*, 2019). L'exposition au BPA semble également corrélée à une augmentation de la synthèse de prolactine chez les femmes dans le cas d'études épidémiologiques (Miao *et al.*, 2015). A l'inverse, le TCS semble induire une diminution concentration dépendante de la prolactine synthétisée chez des rates enceintes à partir d'une consommation en TCS de 100 mg/kg/j (Feng *et al.*, 2016). Dans le cas de notre étude, une expression différentielle des récepteurs à la prolactine (PRLR) a été observée pour tous les groupes et toutes les générations de mâles adultes au niveau du tissu hépatique ainsi qu'une diminution de l'enrichissement de la voie de signalisation de la prolactine pour les F3 LD et F0 à F3 HD représentée notamment par les gènes IRF1, IRS2, SOCS2 et STAT3 différentiellement transcrits. L'impact du mélange de PE à

dose environnementale sur la synthèse de prolactine de la génération F0 mâle est une hypothèse intéressante en cours de vérification.

Un autre facteur non hormonal ayant un impact sur la prise alimentaire est le microbiote. En effet, celui-ci semble impacter la prise alimentaire grâce à la synthèse d'enzymes par les différentes souches bactériennes présentes dans l'intestin. C'est le cas par exemple des souches *Prevotella sp.*, *Ruminococcus sp.* et *Bifidobacterium sp.* qui permettent d'inhiber la sensation de faim grâce à la production de phosphate acétyl-transférase et d'acétate kinase permettant d'activer les neurones du noyau arqué par exemple (Anastasovska *et al.*, 2012; Frost *et al.*, 2014; Zhao *et al.*, 2019; Romaní-Pérez *et al.*, 2021). L'impact des PE sur le microbiote a montré que le BPA à 50 µg/kg entraînait une diminution de la présence des souches *Bifidobacterium sp.* au niveau du microbiote chez la souris (Malaisé *et al.*, 2017). Cet impact n'a cependant pas été retrouvé pour d'autres concentrations de BPA chez le rongeur (Gálvez-Ontiveros *et al.*, 2020; Hampl & Stárka, 2020). Un mélange de diéthyl-phtalate, TCS et MP (0,1735 mg/kg, 0,05 mg/kg et 0,1050 mg/kg respectivement) a également entraîné une augmentation de la présence du genre *Prevotella sp.* chez le rat (Hu *et al.*, 2016b). De plus, l'impact du triclosan sur le microbiote n'est pas négligeable au vu de son activité antibactérienne par inhibition de l'ENR (voir introduction 1.3.4.) (Ma *et al.*, 2020). Il a été montré que le TCS entraînait une forte pression de sélection sur les souches bactériennes résistantes au triclosan chez la souris, même à de faibles concentrations de l'ordre de 2 ppm (Gao *et al.*, 2017). L'impact des PE sur le microbiote des générations F0, F1 et F3 mâles et femelles est en cours d'analyse et pourra permettre de vérifier notamment l'hypothèse d'un impact sur le comportement alimentaire observé pour les générations F0 et F1.

Pour les générations suivantes, il a été observée une augmentation significative de la prise de poids par rapport au groupe contrôle pour les mâles et femelles de la génération F2 HD sans lien apparent avec la prise alimentaire. Cette génération, pourtant indirectement exposée au stade gamète, semble donc plus impactée que les autres. Malheureusement, cette génération n'ayant pas été étudiée, il est difficile de savoir si la prise de poids a continué jusqu'à l'âge de 19 semaines et si le tissu adipeux y est bien plus développé. Pour la génération F3, le poids des femelles semble

augmenter en milieu et en fin de croissance pour le groupe LD et HD respectivement avec une augmentation significative de la prise alimentaire pour le groupe LD. Cependant, plus aucune modification du poids des femelles n'a été retrouvée à l'âge adulte à 19 semaines. De plus, aucune modification de la masse de tissu adipeux n'a été retrouvée pour les mâles et femelles de la génération F3. L'impact important sur la prise de poids retrouvé pour la génération F2 ne se retrouve qu'en partie chez la génération F3, laissant entendre un impact multigénérationnel des PE sur la prise de poids.

8.2 Diabète gestationnel et métabolisme post-partum : peu d'impact des PE

Peu d'études ont été faites sur l'impact des PE de type BPA, BPS, TCS ou MP sur l'apparition de diabète gestationnel. Seules des études épidémiologiques ont montré des résultats contradictoires liant (ou non) une exposition en début de grossesse aux PE et l'apparition de diabète gestationnel ou d'obésité gestationnelle (Robledo *et al.*, 2013; Shapiro *et al.*, 2015; Philips *et al.*, 2020; Rolfo *et al.*, 2020). Chez la rate, aucun impact sur la glycémie à 7 et 18 jours de gestation n'a été retrouvé par rapport au groupe contrôle de la génération F0 à F3 ni en post-partum. De plus, aucune modification du poids et de la quantité de tissu adipeux post-partum n'a été retrouvée. Notre mélange de PE semblent donc avoir peu d'impact sur l'apparition de diabète gestationnel et sur la prise de masse grasse post-partum.

8.3 PE et allaitement : prise de poids au moment du sevrage

L'impact des PE sur la prise de poids a été retrouvée majoritairement autour de la naissance sur le modèle rongeur (Akingbemi *et al.*, 2004; Ahsan *et al.*, 2018; Meng *et al.*, 2018; Meng *et al.*, 2019) mais de manière très irrégulière entre les publications (Negishi *et al.*, 2004; Ma *et al.*, 2020; Kaimal *et al.*, 2021; Morimoto *et al.*, 2022; Weber *et al.*, 2022). Une des hypothèses envisagées par les différents auteurs pour expliquer cette non-linéarité des résultats est le choix du type de rate allaitante. En effet, certains auteurs conservent un allaitement des petits étudiés grâce aux mères exposées

tandis que d'autres choisissent de ne pas exposer les mères aux PE afin de ne mesurer que l'impact *in utero*. Les PE sont retrouvés dans le lait maternel (Okabayashi *et al.*, 2010; Mendonca *et al.*, 2012; Priyanka *et al.*, 2020; Weber *et al.*, 2022) et pourraient être transmis aux nourrissons et donc entraîner des effets délétères sur le bon fonctionnement de leur métabolisme et leur développement. Cette question reste cependant encore peu explorée. A notre connaissance, seule une publication fait l'état de l'impact des PE sur le fonctionnement du métabolisme après le sevrage : Morimoto *et al.* (2022) observent notamment une augmentation de la prolifération des cellules β des îlots de Langerhans du pancréas chez les rats exposés *in utero* à 0,05 mg de BPS/kg/j.

Dans notre étude, il a été retrouvé au moment du sevrage un poids significativement plus élevé de manière concentration dépendante pour les mâles et femelles de toutes les générations (F1 et F4), excepté pour la génération F3 où une baisse du poids au moment du sevrage est retrouvée pour le groupe HD. Cependant, le poids des rats mâles redevient similaire au groupe contrôle au bout de quelques jours post-sevrage excepté pour le groupe LD de la génération F1 dont le poids est toujours significativement augmenté. De même, aucune modification de la sérologie ni de la composition corporelle, et notamment de la masse de tissu adipeux, n'a été retrouvée pour les différentes générations à 3 semaines malgré une augmentation significative du taux de cholestérol dans le sang à jeun pour le groupe LD de la génération F1. Seule une augmentation significative du poids du gastrocnémien a été retrouvée pour ce même groupe et pourrait expliquer cette modification du poids. De manière générale, ces données sont cohérentes avec les études montrant une modification du poids des rats au moment du sevrage lors d'une exposition péri-natale aux PE mais ne le sont pas quant au développement du tissu adipeux chez ces mêmes rats (Akingbemi *et al.*, 2004; Somm *et al.*, 2009; Ahsan *et al.*, 2018; Meng *et al.*, 2018; Meng *et al.*, 2019; Boudalia *et al.*, 2021). De plus, un retour à la normale post-sevrage pose question quant à la cause de cette modification du poids, à savoir si cet impact est dû aux PE et leurs métabolites excrétés dans le lait ou si l'impact provient de la modification de la qualité du lait de la mère directement exposée. En effet, la quantité en acides gras dans le lait semble être diminuée et augmentée après exposition de rats à 0,6 et 52 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{j}$ de BPA respectivement (Altamirano *et*

al., 2015). Il semblerait qu'une diminution des acides gras polyinsaturés soit retrouvée dans le lait des rates exposées à 0,6 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{j}$ tandis qu'une augmentation de la quantité en acides gras saturés soient retrouvée pour les rates exposées à la plus forte dose. Selon ces auteurs, une augmentation de la quantité de lipides dans le lait pourrait entraîner un développement plus important du tissu adipeux chez les nouveaux nés allaités. Dans notre cas, la piste d'une modification du profil lipidique du lait maternel est en cours d'exploration pour les différentes générations F0, F1 et F3. De plus, le lait est composé de nombreuses hormones telle que la prolactine qui, lorsque sa concentration dans le lait est augmentée, peut entraîner une prise de poids des descendants (Ríos *et al.*, 2018; Sobrinho *et al.*, 2019). Cependant l'origine de cette prise de poids n'est pas encore claire. Si une modification des taux de prolactine sérique est retrouvée, il serait intéressant de doser le taux de prolactine dans le lait des femelles afin de vérifier cette hypothèse.

8.4 PE et insulino-résistance : un impact direct et indirect tardif?

Les conséquences d'une exposition aux PE sur la gestion de la glycémie sont encore peu étudiées. Certaines études retrouvent une augmentation de la sensibilité à l'insuline et de la prolifération des cellules β des îlots pancréatiques lors d'exposition de rongeur à de faibles doses de BPS ou BPA (Manukyan *et al.*, 2019; Guo *et al.*, 2021; Morimoto *et al.*, 2022; Gong *et al.*, 2023) tandis qu'une intolérance au glucose a été retrouvée pour des doses de 50 mg/kg de TCS (Ma *et al.*, 2020). Dans les 2 cas, ces effets sont accentués avec l'âge des rongeurs.

Dans notre cas, une diminution de l'aire au-dessus de la courbe lors du test de tolérance à l'insuline a été retrouvée pour les mâles HD de la génération F0 à l'âge de 19 semaines sans modification de la glycémie et de l'insulinémie à jeun, ni du contenu en insuline pancréatique et de la concentration en substrat énergétique dans le foie et le muscle et ce, malgré une modification importante de l'enrichissement des voies de signalisations du métabolisme glucidique et lipidique au niveau du tissu hépatique. Une insulino-résistance, signe d'un pré-diabète, semble donc être observée. L'exploration de l'impact à plus long terme du mélange de PE pour les 2

groupes permettrait de confirmer que les PE entraînent une apparition de troubles métaboliques dont les conséquences sont favorisées par l'âge. Aucun impact n'a été retrouvé sur les générations exposées indirectement et transgénérationnellement sur les tests de tolérance au glucose et à l'insuline, l'impact en F0 ne semble pas être retrouvé sur les générations suivantes. Cependant, une diminution de la glycémie à jeun a été observée pour le groupe F1 LD à 3 semaines sans impact à 19 semaines malgré une augmentation significative de l'insulinémie à jeun pour la F1 HD 19 semaines, associée à une augmentation de la sensibilité des récepteurs à l'insuline au niveau du foie. Ces effets interrogent quant à l'impact à plus long terme de telles modifications sur les réserves d'insuline pancréatique et la gestion des réserves en glycogène. L'impact des PE sur l'apparition de troubles métaboliques semble être retrouvé directement et indirectement avec des conséquences dépendantes de l'âge. Un tel effet âge dépendant a été retrouvé sur des rats âgés de 3, 6 et 9 mois indirectement exposés à 4 µg/kg/j de BPS (Gong *et al.*, 2023). Une étude de l'impact des PE sur le métabolisme à des âges plus avancés serait nécessaire afin de confirmer cette hypothèse. De même, il serait intéressant d'ajouter de nouveaux facteurs de risques, tel qu'un régime gras, afin d'estimer si l'impact des PE pourrait être accru dans des conditions stressantes pour le métabolisme.

8.5 Impact des PE sur le muscle

Une augmentation significative du poids des muscles, et notamment du gastrocnémien et du plantaire, a été observée pour les mâles et femelles du groupe LD de la génération F0. Cet impact a été retrouvé à 3 et 19 semaines pour les mâles F1, notamment sur le gastrocnémien, et semble disparaître en F3. Cette augmentation du poids des muscles pour le groupe LD pourrait être dû à différents facteurs tel qu'une augmentation de la quantité en glycogène intra-musculaire, entraînant alors une concentration en eau plus importante dans le muscle (Fernández-Elías *et al.*, 2015). Cela pourrait également être dû à une augmentation en lipides intra-musculaires ou même en protéines. Dans notre étude, aucune modification de la quantité en glycogène et triglycérides intra-musculaire n'a été observée pour le groupe LD sur les 3

générations. Le contenu protéique n'a pas été analysé mais une diminution significative de la CPK circulante, marqueur de la dégradation du tissu musculaire, ainsi qu'une augmentation significative de la créatinine sanguine, dont le taux augmente avec la masse musculaire, et de l'urée, dont la production dépend du métabolisme protéique, ont été retrouvées pour les mâles F0 LD. La prise de poids des muscles semble donc être liée à la teneur en protéine dans le muscle.

La question de l'impact des PE sur le métabolisme protéique, la teneur en protéine intra-musculaire ainsi que la taille des fibres musculaires n'a pour le moment été que peu étudiée. Seul Jing *et al.* (2019), font état d'une hypertrophie du muscle squelettique lors d'exposition *in utero* d'agneau à des doses de 0,5 mg/kg/j de BPS et BPA. Une augmentation de la taille des fibres musculaires a été observée pour les mâles et les femelles, ainsi qu'une modification de l'expression des myosines des muscles avec notamment la prépondérance de myosine de type I par rapport au groupe non exposé. La myosine de type I (ou dites "slow") se contracte lentement. Ces fibres ont une forte densité mitochondriale et des enzymes, orientant le métabolisme vers de la glycolyse aérobie (voies oxydatives), et sont retrouvées principalement dans les fibres dites "rouges", contrairement aux myosines de type IIa et IIb (dites "fast twitch resistant" et "fast twitch fatigable" respectivement) qui sont retrouvées dans les fibres dites "blanches". Ces dernières permettent une contraction rapide et diffèrent de par leurs capacités métaboliques. En effet les fibres IIa s'orienteront vers un métabolisme oxydatif fort, tandis que les fibres IIb s'orienteront vers un métabolisme essentiellement anaérobie (Carlson, 2021). Cet impact n'a pas été étudié et les causes et conséquences relatives à ces modifications sont actuellement inconnues. Des coupes histologiques des muscles squelettiques sont en cours d'analyse afin d'expliquer cette modification du poids des muscles pour le groupe LD.

De nombreuses hormones peuvent également agir sur le développement musculaire : la testostérone, les hormones thyroïdiennes, la GH et l'IGF-1 notamment (Fink *et al.*, 2018). A 19 semaines, aucune modification de la testostérone (voir la partie "Système reproducteur") ni des taux de T₃ et T₄ libres (voir la partie "Cerveau, neuroendocrinologie et comportement") n'ont été retrouvés de la génération F0 à F3, écartant donc l'hypothèse d'un impact des hormones thyroïdiennes ou de la

testostérone sur la croissance musculaire. La GH, hormone synthétisée par l'hypothalamus, va permettre le développement du tissu musculaire par action directe sur le muscle, mais également de manière indirecte par action sur le foie entraînant alors la libération d'IGF-1, hormone de croissance participant au développement du tissu musculaire. Il est à noter qu'une augmentation du taux de GH entraînerait un effet lipolytique sur le tissu adipeux (Kopchick *et al.*, 2020), effet également retrouvé pour le groupe LD F0 et F1 mâle âgés de 19 semaines mais pas chez les femelles. L'impact des PE sur ces hormones reste peu étudié. Seule l'expression ARN des facteurs de croissance de type IGF dans différents tissus a été rapportée (Talia *et al.*, 2021). Ici, peu d'impacts sur la transcription des gènes inclus dans les voies de signalisation de la GH et d'IGF-1 ont été retrouvés, cependant une exploration de la production de la GH et de l'IGF-1 chez les rats exposés aux PE permettrait de vérifier l'hypothèse d'un trouble de sécrétion de ces hormones.

8.6 PE et mitochondries hépatiques : une modification de la structure mitochondriale

L'exploration de la respiration mitochondriale après exposition aux PE n'a jamais été explorée à notre connaissance. Seules des analyses des enzymes du stress oxydant et de l'expression de l'ARN mitochondrial ont été effectuées, notamment après exposition au BPA (Jiang *et al.*, 2014; Wang *et al.*, 2019; Ahmed *et al.*, 2020; Zhou *et al.*, 2020). De plus, les conclusions concernant l'impact des PE sur l'apparition d'un stress oxydant sont différentes entre les publications : Ahmed *et al.* (2020) ne semblent pas observer d'impact sur le stress oxydant lors d'expositions *in vitro* à des doses de 1 à 10^{-5} nM de BPA tandis que Mornagui *et al.* (2022) semblent retrouver une augmentation du MDA ainsi que des enzymes anti-oxydantes lors d'expositions chroniques à 100 μ g de BPS/kg/j.

Pour la génération F0 une augmentation de la consommation d'O₂ par la mitochondrie a été observée à l'état 3 en présence des substrats glutamate-malate-succinate. Cette augmentation d'O₂ semble être liée spécifiquement au complexe IV au vu de l'augmentation significative de la consommation d'O₂ lors de l'ajoute d'antimycine A/ascorbate et TMPD. Cette modification ne semble cependant pas

être liée à l'expression de ce complexe au vu des résultats sur western-blot. Cependant, une augmentation de l'activité enzymatique du complexe IV pourrait entraîner cette augmentation de la consommation d'O₂, il serait donc intéressant de mesurer l'activité du complexe IV spécifiquement afin de valider cette hypothèse.

Egalement, une augmentation significative de la production de ROS au niveau du complexe III (visible par l'augmentation significative de la production d'H₂O₂ en présence de glutamate-malate; glutamate-malate + roténone+ antimycine A; succinate; succinate+ roténone+ antimycine A; glutamate-malate-succinate + roténone) (pour plus d'explications se rapporter à la partie "Matériel et méthodes") et par "*flux reverse*" a été observée pour le groupe LD de la génération F0. Une tendance à l'augmentation de la production de ROS au niveau du complexe III est également retrouvée pour la génération F1 à l'âge de 19 semaines pour l'ensemble des groupes. Cette modification de la production de ROS ne semble cependant pas entraîner un stress oxydant car aucune modification des TBARS, thiols, FRAP et GPx n'a été observée pour les 2 générations. Seule une diminution significative de la quantité de TBARS (marqueur du stress oxydant) est retrouvée pour la F1 HD 19 semaines.

Plusieurs hypothèses existent afin d'expliquer cette fuite d'électrons autour du complexe III. La première hypothèse est une production accrue de radicaux libre par le complexe III lui-même et notamment au niveau du site dit Q₀ du cycle Q. Le cycle Q est l'ensemble des réactions du complexe III permettant le transfert des électrons le long de la chaîne respiratoire couplé à la pompe à proton vers l'espace intermembranaire nécessaire à la respiration mitochondriale. Le site Q₀ est la première réaction du cycle Q permettant l'oxydation du transporteur ubiquinol en ubiquinone afin de transférer les électrons provenant du complexe I ou II au cytochrome c. Ce site Q₀ est notamment connu pour être une source de fuite d'électrons (Bleier & Dröse, 2013; Banerjee *et al.*, 2022). Il est important de noter que, dans notre étude, une augmentation significative de l'expression du complexe III est observée pouvant, de ce fait, être une des hypothèses expliquant l'augmentation de la production de ROS au niveau du complexe III. La deuxième hypothèse est l'implication d'un transporteur dans la fuite d'électrons, et notamment de l'ubiquinone. En plus de jouer un rôle au niveau du site Q₀ du cycle Q du complexe III, l'ubiquinone participe au "*flux reverse*" entre le complexe I et II (Wang *et al.*, 2016). Au vu de l'augmentation de la fuite

d'électron au niveau du "flux reverse", il serait intéressant de mesurer l'expression et l'activité de l'ubiquinone.

Pour le groupe LD de la génération F0, une modification de la structure mitochondriale ainsi que de l'activité de la chaîne respiratoire est donc observée ce qui, à notre connaissance, n'a jamais été rapportée dans la littérature sur les PE.

Pour la génération F1, et en particulier à l'âge de 3 semaines, une augmentation de la consommation d'oxygène à l'état basal est retrouvée pour le groupe HD sans modification du couplage. A 19 semaines, un moins bon couplage des mitochondries est observé pour ce même groupe, c'est à dire que la consommation d'O₂ n'est pas liée à la production d'ATP mais à un maintien du potentiel membranaire. Pour la génération F3, ce mauvais couplage des mitochondries du groupe HD est également retrouvé mais uniquement à l'âge de 3 semaines. Ces modifications de la respiration à l'état basal et du couplage montrent que les mitochondries du groupe HD des générations F1 et F3 ont besoin de consommer significativement plus d'O₂ que celles du groupe contrôle pour maintenir un potentiel membranaire. Une des hypothèses pouvant expliquer cette difficulté du maintien du potentiel membranaire est la fuite de protons à travers la membrane mitochondriale. Cette perte de perméabilité de la membrane pourrait être liée à une modification de sa structure et donc de sa composition en lipides. Afin de confirmer cette hypothèse, il serait intéressant de caractériser les lipides constituant les membranes des mitochondries hépatiques, comme par exemple les phosphatidyl-cholines et les phosphatidyl-éthanolamines, constituant à 37 % et 31 % respectivement la membrane mitochondriale (Casares *et al.*, 2019). De plus, lors de l'analyse des résultats de transcriptomique, il a été retrouvé que les voies du métabolisme lipidique hépatiques sont différentiellement transcrites par rapport au groupe contrôle, et ce pour toutes les générations et tous les groupes exposés. Une modification de la composition des membranes, et donc de la perméabilité de celles-ci, pourrait découler d'un impact transgénérationnel sur le métabolisme lipidique. De plus, ces modifications du profil lipidique hépatique ont déjà été observées dans la littérature lors d'expositions directes à différentes doses de TCS ou lors d'exposition indirecte à différents types de bisphénols, dont le BPS (Meng *et al.*, 2018 ; Huang *et al.*, 2020). L'impact multigénérationnel de telles modifications n'a cependant, à notre connaissance, jamais été exploré.

A l'âge de 3 semaines, aucune modification de la production de ROS n'a été retrouvée pour les groupes LD et HD des générations F1 et F3, tout comme pour la F3 à 19 semaines. Seule une tendance à la diminution de la production de ROS par "flux reverse" est observée, pouvant être liée à une diminution significative de l'expression du complexe II dosée par western-blot. Pour tous les âges et toutes les générations, aucun impact sur le stress oxydant n'est observé. Seule une augmentation significative de la GPx, enzyme anti-oxydante, est observée pour le groupe F3 HD 3 semaines ainsi qu'une diminution significative des TBARS, marqueur du stress oxydant, à l'âge de 19 semaines.

De manière générale, l'ensemble des modifications directes, indirectes et transgénérationnelles que nous observons sur les mitochondries hépatiques n'ont, à notre connaissance, jamais été décrites dans la littérature. Ces modifications fonctionnelles et structurelles multigénérationnelles ne semblent cependant pas avoir d'impact sur le stress oxydant jusqu'à l'âge de 19 semaines. Il serait intéressant de tester si ces atteintes de la chaîne respiratoire ne pourraient pas avoir des effets délétères à plus long terme sur des rats plus âgés pour les générations F0 et F1. En effet, une modification fonctionnelle ou structurelle de celles-ci pourrait à terme entraîner des dysfonctions métaboliques graves et donc l'apparition de troubles hépatiques tel que la NAFLD et la NASH et avoir un effet sur le développement du diabète (Mansouri *et al.*, 2018)

8.7 Impact des PE sur la structure du tissu hépatique : effet dose dépendant ?

Les études ont mis en évidence des impacts divers des PE sur le tissu hépatique : Zhang *et al.* (2018a) ne rapporte aucun impact du BPS sur le tissu hépatique de rats exposés pendant 8 semaines à des doses de 5 à 500 $\mu\text{g}/\text{kg}$. Une inflammation et dégradation du tissu a cependant été observée à 5000 $\mu\text{g}/\text{kg}$ de BPS. De même, pour Meng *et al.* (2019), où seules des expositions *in utero* au bisphénol de type A et F à des doses de 100 ng/g/j ont entraîné l'apparition de gouttelettes lipidiques dans le tissu. Le TCS induirait également une stéatose du foie dès 100 mg/kg/j (Huang *et al.*, 2020). Les PE semblent donc induire à forte dose une accumulation de lipides

dans le foie (Foulds *et al.*, 2017; Treviño *et al.*, 2017; Zhang *et al.*, 2018a; Meng *et al.*, 2019; Huang *et al.*, 2020).

Ici, peu d'impact sur le tissu hépatique a été retrouvé de la F0 à la F3 que ce soit pour le groupe LD et HD. Seule une légère inflammation portale a été retrouvée pour les groupes exposés de la F0. Ceci coïncide avec les mesures sériques d'ALAT et ASAT qui ne sont pas retrouvées augmentées mis à part pour le groupe HD de la génération F1 et F3 (augmentation de l'ASAT et de l'ALAT respectivement). La transcriptomique valide ce faible impact sur les pathologies hépatiques de type NAFLD, NASH et hépatite au vu du peu de gènes différentiellement transcrits et ayant un lien avec ces pathologies. De plus, peu de coupes histologiques ont montré la présence d'hépatocytes gras, ce qui est confirmé par le dosage des triglycérides dans le foie. Enfin, une forte sous-transcription des voies liées au métabolisme lipidique a été retrouvée pour les 2 doses d'exposition au niveau du tissu hépatique et de manière dose dépendante de la génération F0 à F3. Il serait cependant intéressant de mesurer si ces modifications transcriptomiques ont un impact sur le profil lipidique hépatique. En effet, un tel impact avait déjà été mis en évidence par Meng *et al.* (2018) et Huang *et al.* (2020) lors d'exposition à différents types de bisphénols et au TCS. Une modification du profil lipidique hépatique pourrait entraîner à terme l'apparition de NASH ou NAFLD (Ghadir *et al.*, 2010).

8.8 Conclusion de l'impact des PE sur le métabolisme

De manière générale, un impact des PE sur les tissus phares du métabolisme énergétique a été mis en évidence. Cet impact est surtout retrouvé pour la génération F0 et semble disparaître au fur et à mesure des générations. La question de l'impact des PE sur le métabolisme est donc dépendante de l'exposition.

Cet impact sur le métabolisme semble perturber principalement le métabolisme hépatique des acides gras, nécessaire à la constitution et au bon fonctionnement de toutes les cellules. Un tel impact semble avoir des conséquences aussi bien sur le fonctionnement de la chaîne respiratoire mitochondriale que sur la gestion des substrats énergétiques par l'organisme. Cet effet pourrait donc avoir des conséquences

délétères en cas de stress plus important du système métabolique lors d'une exposition à une nourriture riche en graisse. En effet, de nombreuses études recensées par Heindel *et al.* (2017) et Nadal *et al.* (2017) font état d'un impact accru des PE lors d'exposition à une nourriture dite "high fat". Il serait donc intéressant de tester l'impact de ce mélange de PE sur différentes générations avec un régime riche en graisse afin de voir si une potentialisation des impacts métaboliques est observée.

Concernant l'impact des PE sur l'apparition de troubles métaboliques, un pré-diabète semble être retrouvé pour les générations F0 et F1 HD à partir de 19 semaines. Cependant, il serait intéressant de mesurer l'évolution de ces troubles métaboliques à différents âges du stade jeune adulte à âgé (par exemple, des rats âgés de 19 semaines à 18 mois) afin de vérifier si les PE potentialisent l'apparition de troubles métaboliques avec l'âge.

Au vu de l'ensemble de ces résultats, l'impact des PE sur le métabolisme pourrait entraîner des troubles plus larges tels que des troubles endocriniens, du système cardio-vasculaire, du système reproducteur ou même neurologiques. Ce dernier système semble également impacté au vu des modifications du comportement alimentaire des rats exposés au PE.

Quatrième partie

Cerveau, neuroendocrinologie et comportement

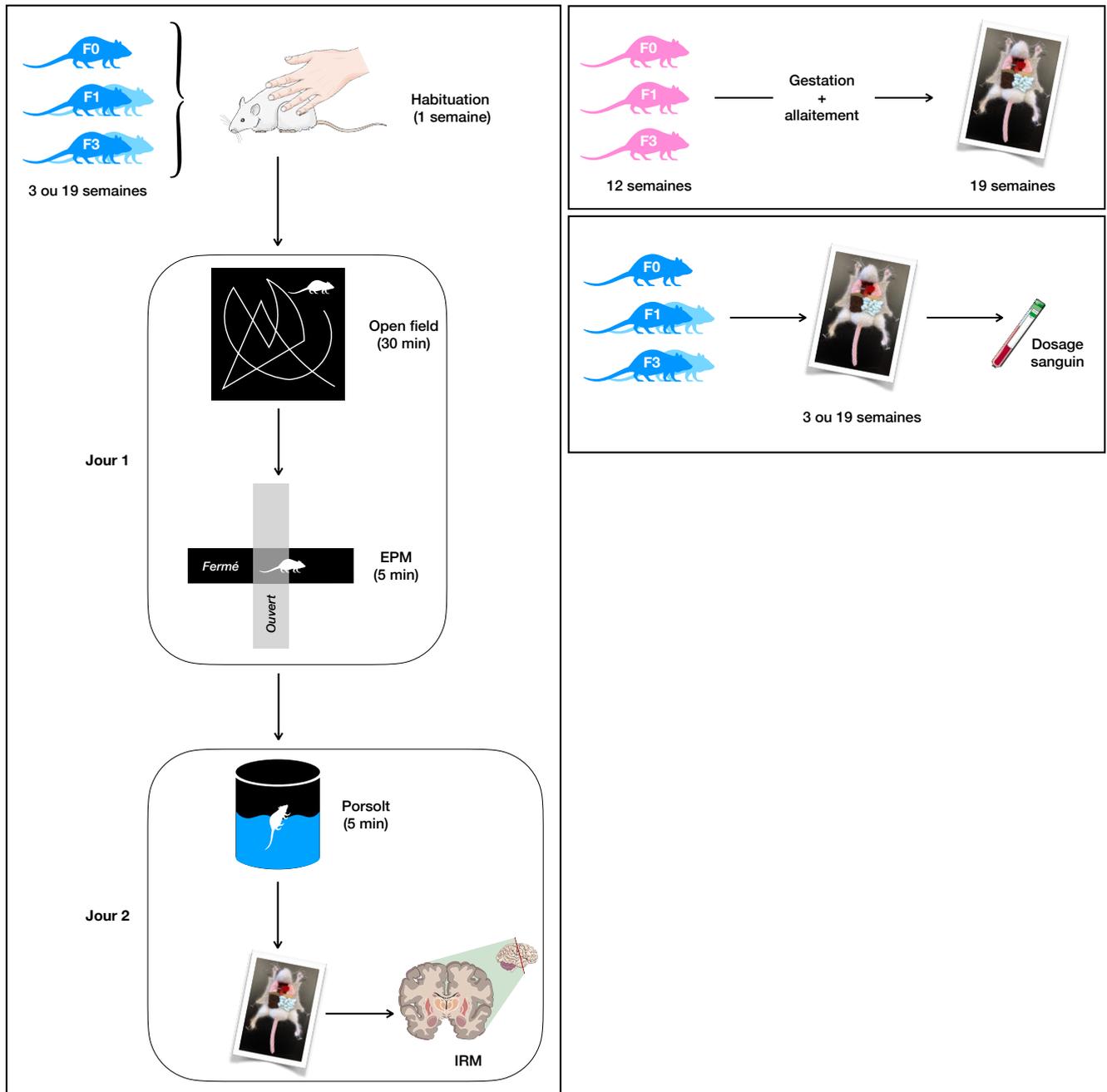


FIGURE 107 – Rappels des méthodes d’exploration du cerveau, de la neuroendocrinologie et du comportement pour les mâles et femelles des différentes générations et des différents âges. EPM, “*elevated plus maze*”; IRM, imagerie par résonance magnétique.

Chapitre 9

Cerveau, neuroendocrinologie et comportement -

Résultats

9.1 Impacts des PE sur la surrénale et la thyroïde

9.1.1 Poids des surrénales

9.1.1.1 Chez le raton

Une tendance à la diminution de la masse relative des surrénales droites est observée pour les ratons F1 des groupes LD et HD par rapport au groupe contrôle (p-valeurs= 0,07 et 0,08 respectivement) (Figure 108). Cette modification n'est pas retrouvée pour la génération F3.

9.1.1.2 Chez le rat adulte

Une diminution de la masse relative des surrénales droites de manière dose dépendante est observée pour les mâles adultes des 2 groupes d'expositions LD et HD par rapport au groupe contrôle de la génération F0 (p-valeurs= 0,06 et 0,03 respectivement) (Figure 109). Cette modification de la masse relative n'est pas retrouvée pour la génération F1 mais est retrouvée pour le groupe HD uniquement de la génération F3 (p-valeur=0,008). Cette diminution significative de la masse relative des surrénales droites observée chez les mâles F0 adultes de manière concentration dépendante est également observée chez les femelles (Figure 110) des groupes LD et HD de la même génération (p-valeurs=0,04 et 0,003 respectivement) mais n'est pas retrouvée pour les générations F1 et F3.

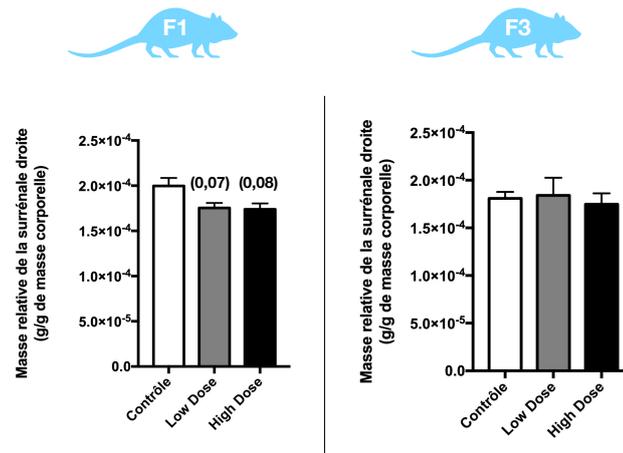


FIGURE 108 – Masse relative de la surrénale droite des mâles sevrés âgés de 3 semaines pour les générations F1 et F3 (n=36). Les données sont exprimées en moyenne \pm l'erreur type (SEM) et comparées aux données du groupe contrôle. Les tendances ($0,1 < p\text{-valeur} < 0,05$) sont exprimées entre parenthèses.

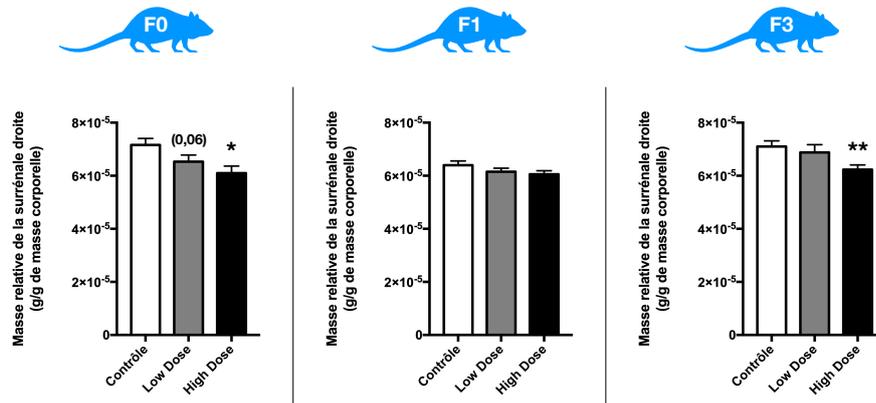


FIGURE 109 – Masse relative de la surrénale droite des mâles âgés de 19 semaines pour les générations F0 (n=34 à 46), F1 (n=36) et F3 (n=36). Les données sont exprimées en moyenne \pm l'erreur type (SEM) et comparées aux données du groupe contrôle. Les tendances ($0,1 < p\text{-valeur} < 0,05$) sont exprimées entre parenthèses; * p-valeur < 0,05; ** p-valeur < 0,01.

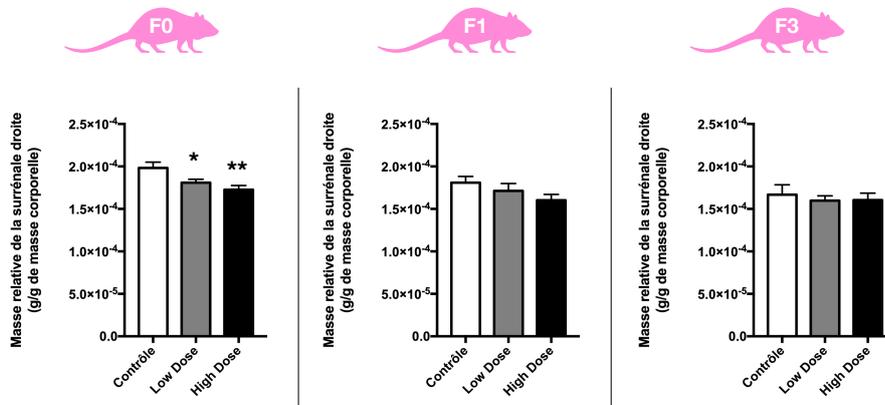


FIGURE 110 – Masse relative de la surrénale droite des femelles âgées de 19 semaines pour les générations F0 (n=20 à 31), F1 (n=12 à 14) et F3 (n=16 à 17). Les données sont exprimées en moyenne \pm l'erreur type (SEM) et comparées aux données du groupe contrôle. * p-valeur < 0,05; ** p-valeur < 0,01.

9.1.2 Dosages sanguins

9.1.2.1 Impact direct

Aucune modification de la quantité des hormones thyroïdiennes et de l'ACTH circulantes n'est observée chez les mâles adultes des groupes F0 LD et HD par rapport au groupe contrôle (Tableau 33).

9.1.2.2 Impact indirect

Aucune modification de la quantité des hormones thyroïdiennes et de l'ACTH circulantes n'est observée chez les rats (Tableau 34) et les mâles adultes (Tableau 35) des groupes F1 LD et HD par rapport au groupe contrôle.

9.1.2.3 Impact transgénérationnel

Une diminution significative de l'hormone thyroïdienne T₄ libre circulante est retrouvée pour les rats des groupes LD et HD par rapport au groupe contrôle de la génération F3 (p-valeurs=0,03 et 0,02 respectivement) (Tableau 36). Aucune modification de la quantité de T₃ libre ni de l'ACTH circulantes n'est mesurée.

Chez le rat adulte, aucune modification de la quantité d'hormones thyroïdiennes circulantes n'est mesurée (Tableau 37). Cependant, une diminution significative de l'ACTH circulante est mesurée pour le groupe HD de la génération F3 par rapport au groupe contrôle (p-valeur=0,003).

♂ F0 19sem	Contrôle	Low dose	High dose
T ₃ libre (pmol/L)	5,23 ± 0,77	4,92 ± 0,95	5,43 ± 0,84
T ₄ libre (pmol/L)	33,29 ± 3,40	33,24 ± 2,38	33,98 ± 4,14
ACTH (pmol/L)	10,79 ± 9,05	9,41 ± 4,20	6,09 ± 3,30

TABLEAU 33 – Dosage des hormones thyroïdiennes et de l'ACTH (hormone corticotrope) sériques des mâles F0 à 19 semaines. Les données sont exprimées en moyenne ± écart-type (n=10) et comparées aux données du groupe contrôle. T₃, triiodothyronine; T₄, thyroxine.

♂ F1 3sem	Contrôle	Low dose	High dose
T ₃ libre (pmol/L)	6,47 ± 0,69	6,60 ± 0,46	6,57 ± 0,84
T ₄ libre (pmol/L)	25,69 ± 2,87	26,68 ± 3,79	26,64 ± 3,59
ACTH (pmol/L)	17,24 ± 14,18	14,29 ± 7,08	10,93 ± 7,27

TABLEAU 34 – Dosage des hormones thyroïdiennes et de l'ACTH (hormone corticotrope) sériques des mâles F1 à 3 semaines. Les données sont exprimées en moyenne ± écart-type (n=10) et comparées aux données du groupe contrôle. T₃, triiodothyronine; T₄, thyroxine.

♂ F1 19sem	Contrôle	Low dose	High dose
T ₃ libre (pmol/L)	5,13 ± 0,82	4,64 ± 0,53	5,01 ± 0,77
T ₄ libre (pmol/L)	33,60 ± 3,27	32,05 ± 3,27	33,67 ± 2,71
ACTH (pmol/L)	13,71 ± 7,14	11,94 ± 8,47	11,34 ± 5,39

TABLEAU 35 – Dosage des hormones thyroïdiennes et de l'ACTH (hormone corticotrope) sériques des mâles F1 à 19 semaines. Les données sont exprimées en moyenne ± écart-type (n=10) et comparées aux données du groupe contrôle. T₃, triiodothyronine; T₄, thyroxine.

♂ F3 3sem	Contrôle	Low dose	High dose
T ₃ libre (pmol/L)	6,23 ± 0,57	5,69 ± 0,31	6,16 ± 0,96
T ₄ libre (pmol/L)	33,60 ± 3,27	28,03 ± 3,51 *	27,49 ± 1,99 *
ACTH (pmol/L)	13,71 ± 7,14	25,21 ± 26,56	17,03 ± 8,73

TABLEAU 36 – Dosage des hormones thyroïdiennes et de l'ACTH (hormone corticotrope) sériques des mâles F3 à 3 semaines. Les données sont exprimées en moyenne ± écart-type (n=10) et comparées aux données du groupe contrôle. * p-valeur < 0,05. T₃, triiodothyronine; T₄, thyroxine.

♂ F3 19sem	Contrôle	Low dose	High dose
T ₃ libre (pmol/L)	5,03 ± 0,43	5,33 ± 0,76	5,44 ± 0,53
T ₄ libre (pmol/L)	34,91 ± 2,61	36,93 ± 3,97	35,87 ± 4,07
ACTH (pmol/L)	13,57 ± 16,75	8,77 ± 7,55	3,24 ± 1,28 **

TABLEAU 37 – Dosage des hormones thyroïdiennes et de l'ACTH (hormone corticotrope) sériques des mâles F3 à 19 semaines. Les données sont exprimées en moyenne ± écart-type (n=10) et comparées aux données du groupe contrôle. T₃, triiodothyronine; T₄, thyroxine.

9.2 Impact des PE sur le comportement

9.2.1 Impact sur l'activité locomotrice

La distance parcourue est significativement plus élevée pour les mâles des groupes exposés en comparaison du groupe contrôle pour les 10 premières minutes (Figure 111). De manière générale, une hyperactivité des rats exposés aux PE âgés de 20 semaines est observée. A l'inverse, pour les descendants F1 à 4 semaines, la distance parcourue est significativement plus petite pour le groupe HD sur les 5 première minutes. Globalement, on observe une légère hypoactivité des ratons F1 mâles des groupes LD et HD par rapport au groupe contrôle. Cette modification de l'activité locomotrice n'est plus observée à l'âge adulte. De même, aucune modification de l'activité locomotrice n'est observée pour les groupes LD et HD de la génération F3 à 4 et 20 semaines.

9.2.2 Impact sur l'anxiété

Les groupes LD et HD ne montrent aucun signe d'anxiété lors du test de l'EPM pour toutes les générations et pour tous les âges (Figure 112). On observe cependant pour tous les groupes (contrôle, LD et HD) une tendance à passer autant de temps dans les bras ouverts et fermés pour la génération F3 à l'âge de 4 et 20 semaines contrairement aux autres générations.

9.2.3 Impact sur la dépression

Les groupes LD et HD ne montrent aucun signe de dépression lors du test de Porsolt pour toutes les générations et pour tous les âges (Figure 113).

9.3 Impacts des PE sur le cerveau

9.3.1 Poids du cerveau

9.3.1.1 Chez le raton

Une diminution significative de la masse relative du cerveau est observée à 3 semaines pour le groupe LD de la génération F1 par rapport au groupe contrôle

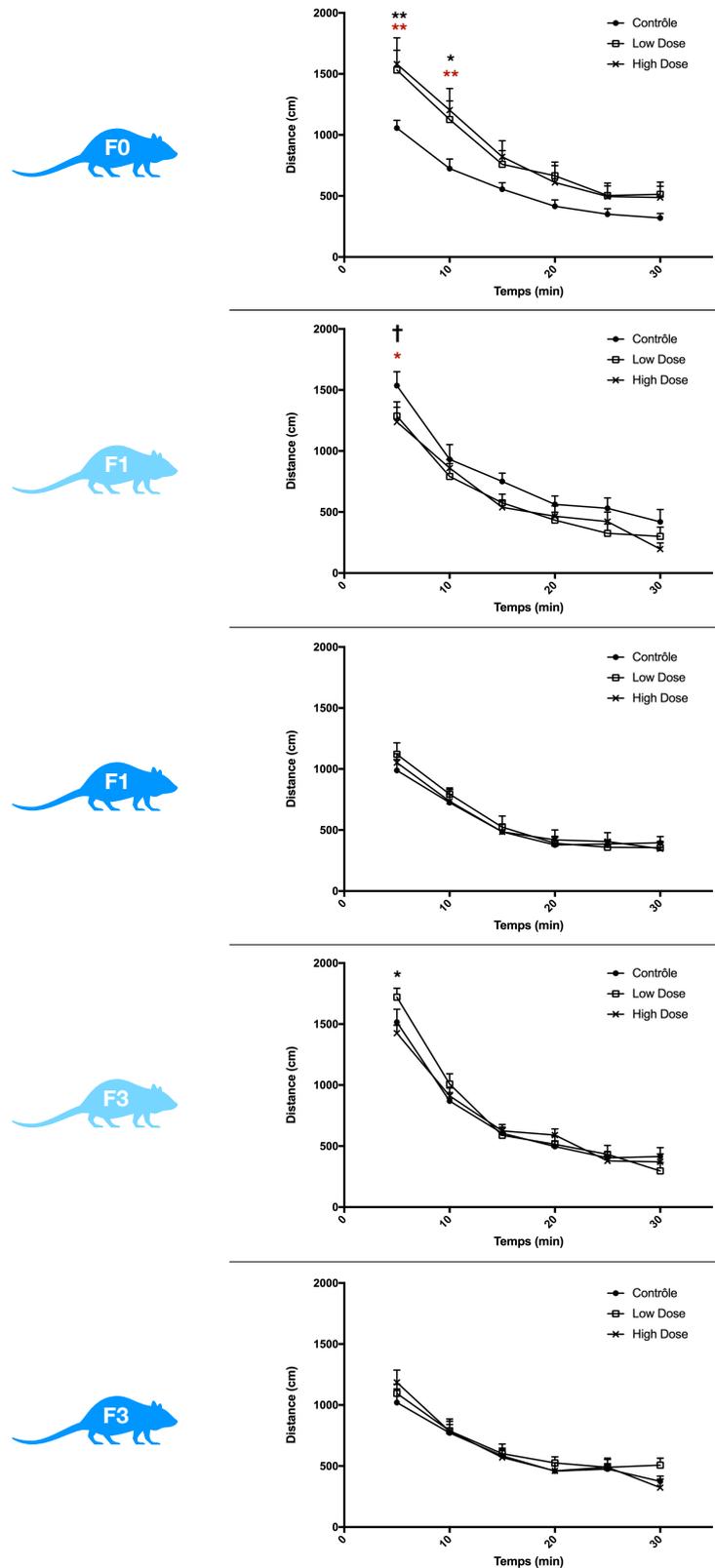


FIGURE 111 – Mesure de l'impact des PE sur l'activité motrice chez les mâles âgés de 4 (bleu ciel) ou 20 semaines (bleu foncé) des générations F0, F1 et F3 (n=12). Les données sont exprimées en moyenne \pm écart-type et comparées aux données du groupe contrôle. En noir sont exprimés les résultats statistiques contrôle *versus* "low dose" et en rouge contrôle *versus* "high dose". † 0,1 < p-valeur; * p-valeur < 0,05; ** p-valeur < 0,01.

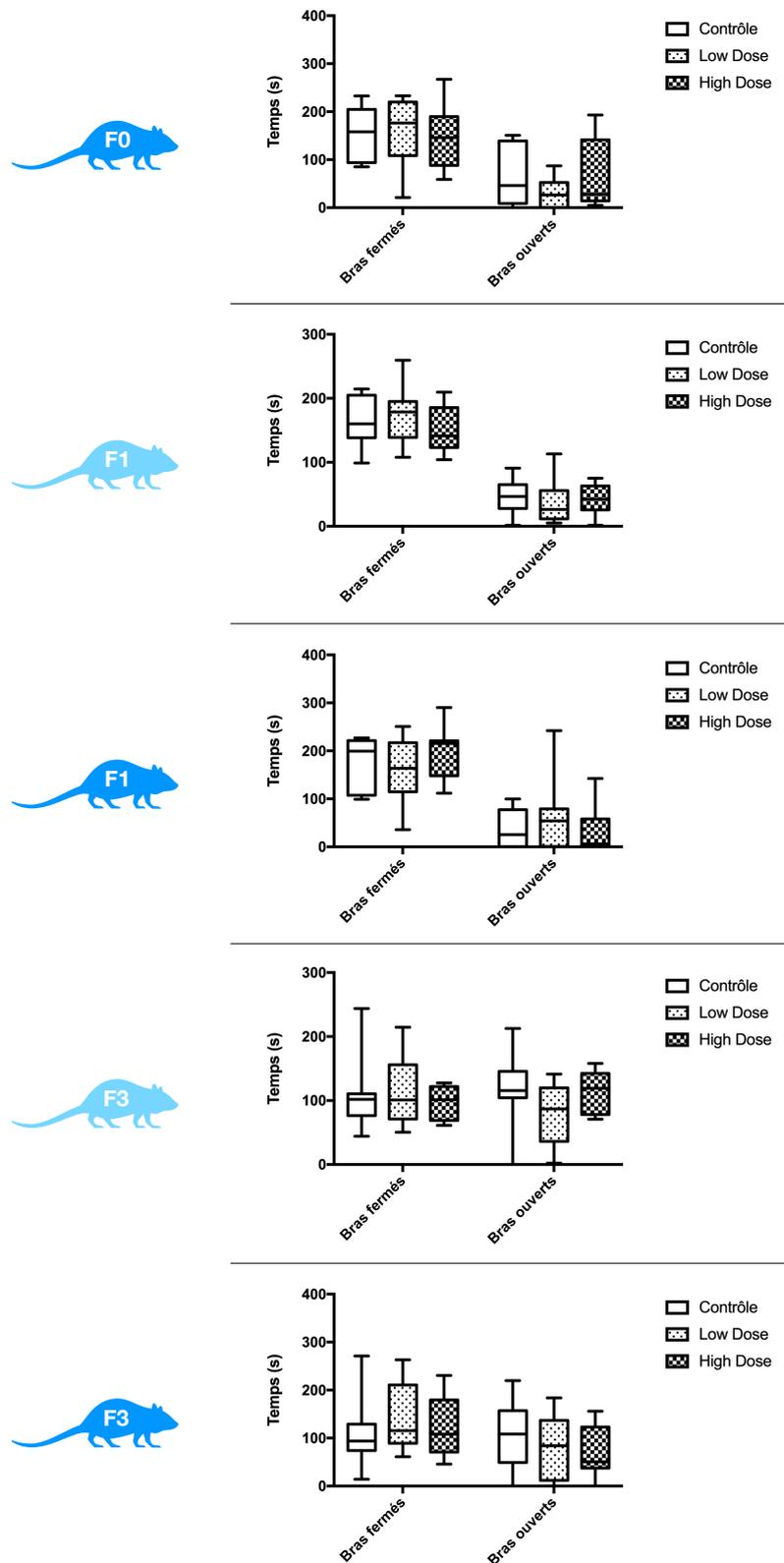


FIGURE 112 – Mesure de l’impact des PE sur l’anxiété chez les mâles âgés de 4 (bleu ciel) ou 20 semaines (bleu foncé) des générations F0, F1 et F3 (n=12). La distribution des données est représentée autour de la médiane sous forme de "box plot" et des barres d’erreurs représentant le maximum et minimum. Les données des groupes exposés sont comparées aux données du groupe contrôle.

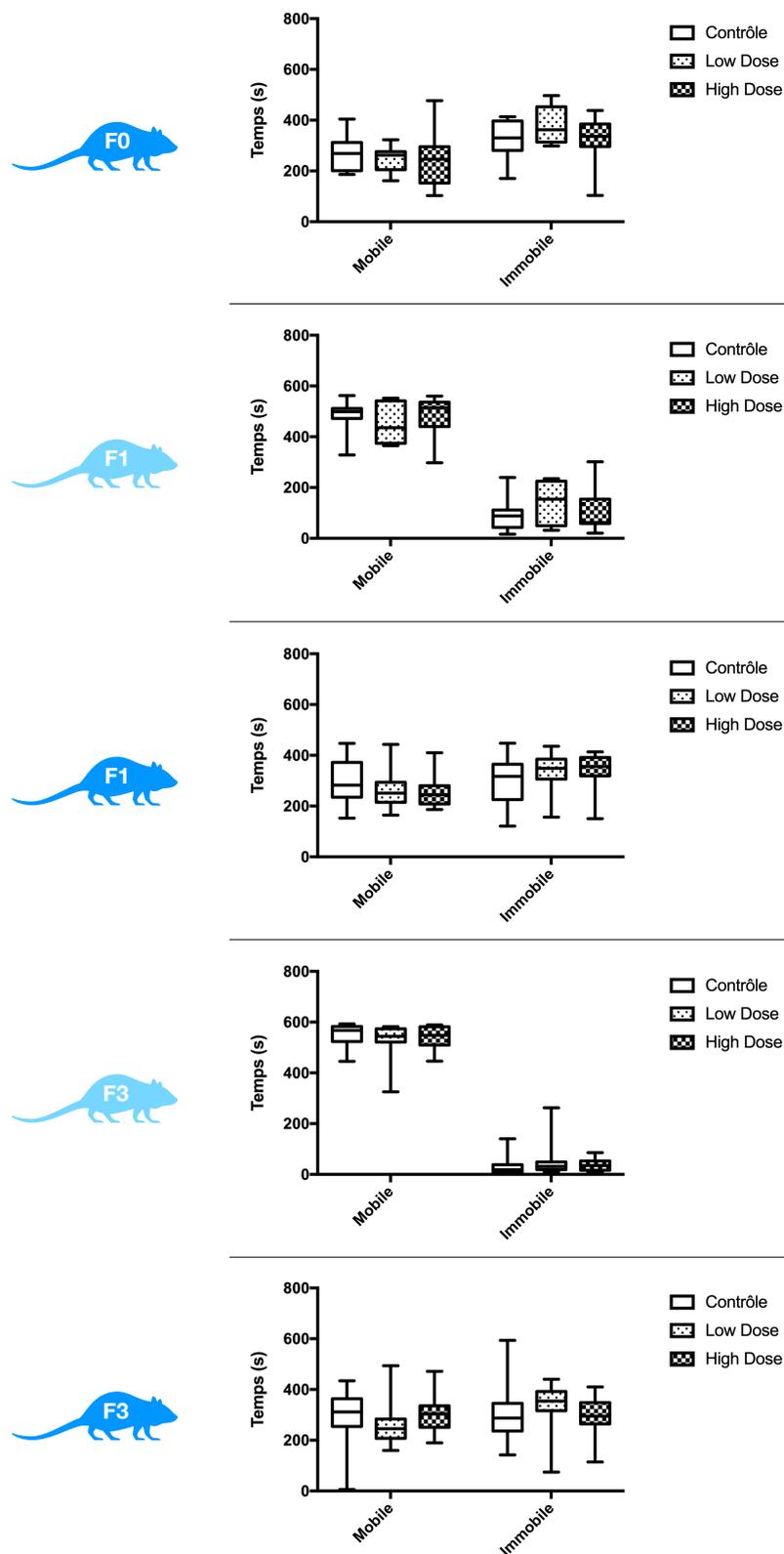


FIGURE 113 – Mesure de l'impact des PE sur l'apparition de symptôme dépressif chez les mâles âgés de 4 (bleu ciel) ou 20 semaines (bleu foncé) des générations F0, F1 et F3 (n=12). La distribution des données est représentée autour de la médiane sous forme de "box plot" et des barres d'erreurs représentant le maximum et minimum. Les données des groupes exposés sont comparées aux données du groupe contrôle.

($2,0 \cdot 10^{-2}$ g/g versus $1,8 \cdot 10^{-2}$ g/g en moyenne, p-valeur=0,003) (Figure 114). Cette modification de la masse relative du cerveau n'est plus retrouvée pour la génération F3 à 3 semaines. Aucune modification de la masse relative du cerveau n'est mesurée pour le groupe HD à ces âges et générations.

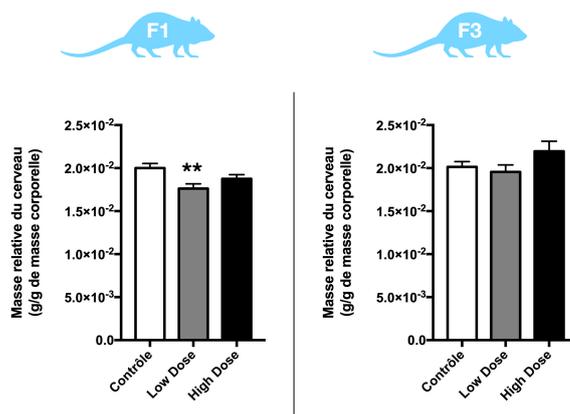


FIGURE 114 – Masse relative du cerveau des mâles sevrés âgés de 3 semaines pour les générations F1 et F3 (n=36). Les données sont exprimées en moyenne \pm l'erreur type (SEM) et comparées aux données du groupe contrôle. ** p-valeur<0,01.

9.3.1.2 Chez le rat adulte

Aucune modification de la masse relative du cerveau à 19 semaine chez les mâles (Figure 115) et les femelles (Figure 116) des générations F0, F1 et F3 pour les groupes LD et HD n'est retrouvée par rapport aux groupes contrôles des générations respectives.

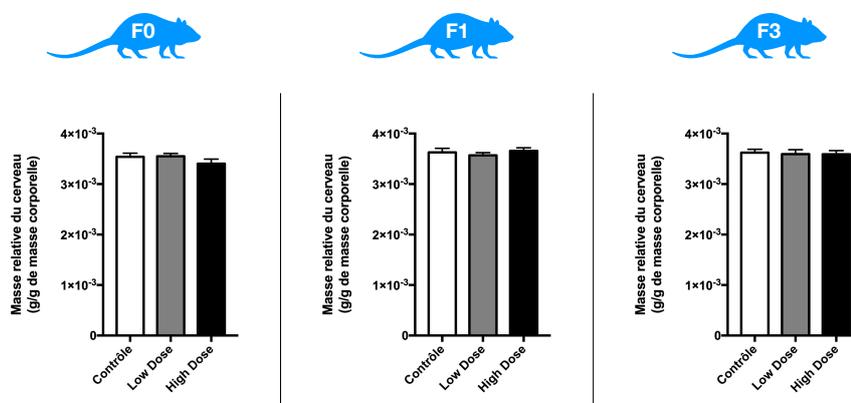


FIGURE 115 – Masse relative du cerveau des mâles sevrés âgés de 19 semaines pour les générations F0 (n=34 à 46), F1(n=36) et F3 (n=36). Les données sont exprimées en moyenne \pm l'erreur type (SEM) et comparées aux données du groupe contrôle.

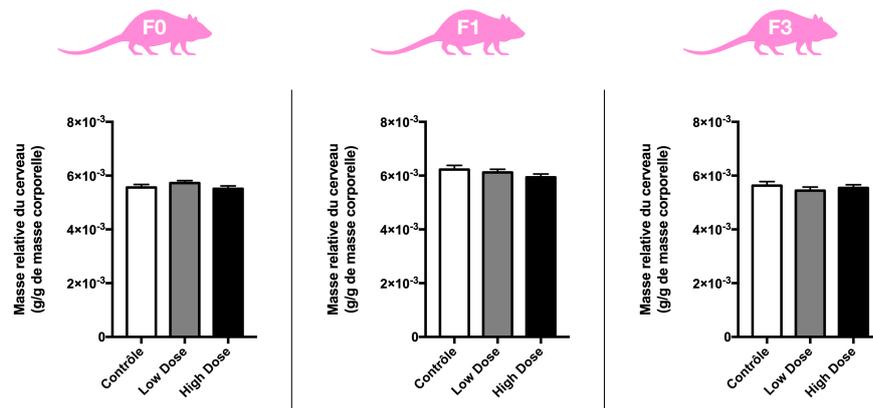


FIGURE 116 – Masse relative du cerveau des femelles âgées de 19 semaines pour les générations F0 (n=20 à 31), F1 (n=12 à 14) et F3 (n=16 à 17). Les données sont exprimées en moyenne \pm l'erreur type (SEM) et comparées aux données du groupe contrôle.

9.3.2 Volume du cerveau mesuré par IRM structurale

9.3.2.1 Chez le raton

Aucune modification du volume total du cerveau à 4 semaines des générations F0, F1 et F3 pour les groupes LD et HD n'est retrouvé par rapport aux groupes contrôles des générations respectives (Figure 117).

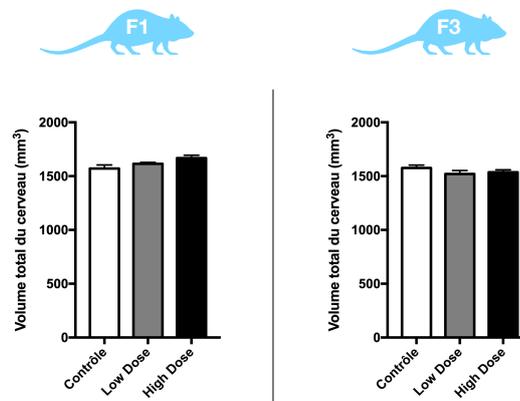


FIGURE 117 – Volume total du cerveau des mâles âgés de 4 semaines pour les générations F1 (n=7 à 8) et F3 (n=8). Les données sont exprimées en moyenne \pm l'erreur type (SEM) et comparées aux données du groupe contrôle.

9.3.2.2 Chez le rat adulte

Aucune modification du volume total du cerveau à 20 semaines des générations F0, F1 et F3 pour les groupes LD et HD n'est retrouvée par rapport aux groupes contrôles des générations respectives (Figure 118).

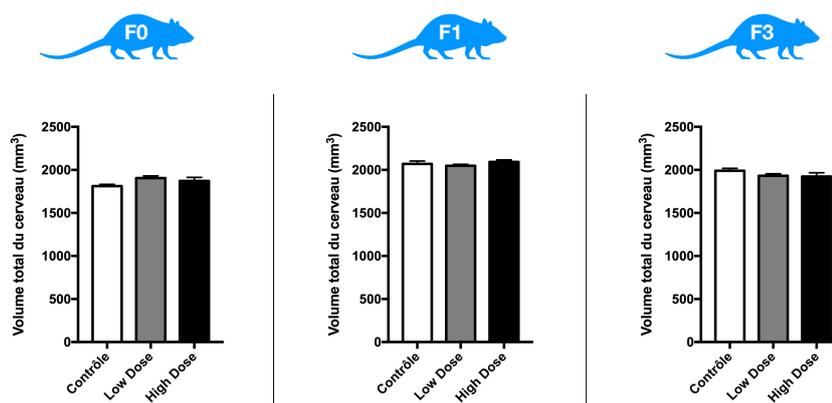


FIGURE 118 – Volume total du cerveau des mâles âgés de 20 semaines pour les générations F0 (n=8 à 10), F1 (n=8) et F3 (n=8). Les données sont exprimées en moyenne \pm l'erreur type (SEM) et comparées aux données du groupe contrôle.

9.3.3 Volume des aires cérébrales

9.3.3.1 Impact direct

Plusieurs aires des zones cérébrales sont modifiées pour les mâles F0 20 semaines exposés (Tableau 38). Certaines de ces zones voient leurs aires respectives modifiées à plus de 10 % :

- L'aire du cortex visuel secondaire médio-latéral est significativement diminuée pour le groupe LD; c'est également le cas des HD mais cela ne représente qu'une modification de 7 % du volume. L'aire de la partie médio-médiale de ce cortex est également significativement diminuée de 8 % pour les rats du groupe LD.
- L'aire de la matière grise périventriculaire des groupes LD et HD est significativement augmentée de 15 % et 10 % respectivement.

Une modification moins importante ($x < 10$ %) de l'aire de certaines zones cérébrales a également été mesurée :

- L'aire du cortex insulaire est significativement diminuée pour les groupes LD et HD de 5 % et 6 % respectivement.
- L'aire du cortex associatif latéro-pariétal voit son volume significativement diminué de 6 % et 5 % pour les groupes LD et HD respectivement. Pour le groupe LD, l'aire de la structure médio-latérale de ce même cortex est également significativement diminuée de 6 %.

σ^2 F0 19 sem	Nom de l'aire cérébrale	Volume moyen de l'aire cérébrale / volume total moyen du cerveau	Ecart type	Modification du volume de l'aire cérébrale par rapport au groupe contrôle	P-valeur	% de modification du volume de l'aire par rapport au contrôle
Low dose	Cortex associatif latéro-pariétal	4,86.10 ⁻³	1,8.10 ⁻⁴	↓	0,0041	6,17
	Cortex associatif médio-pariétal	1,81.10 ⁻³	4,4.10 ⁻⁵	↓	0,0061	6,28
	Cortex insulaire agranulaire dysgranulaire	1,59.10 ⁻²	6,9.10 ⁻⁵	↓	0,0229	4,88
	Cortex moteur primaire	2,01.10 ⁻²	5,2.10 ⁻⁴	↓	0,027	3,21
	Cortex primaire somato-sensoriel des membres antérieurs	1,03.10 ⁻²	3,2.10 ⁻⁴	↓	0,0038	4,11
	Cortex primaire somato-sensoriel des membres postérieurs	4,91.10 ⁻³	1,7.10 ⁻⁴	↓	0,0011	5,57
	Cortex primaire somato-sensoriel du tronc	1,75.10 ⁻³	5,3.10 ⁻⁵	↓	0,0388	4,92
	Cortex primaire visuel	5,04.10 ⁻³	1,7.10 ⁻⁴	↓	0,0116	6,58
	Cortex visuel secondaire médio-latéral	3,41.10 ⁻³	1,4.10 ⁻⁴	↓	0,0005	10,73
	Cortex visuel secondaire médio-médial	1,32.10 ⁻³	6,9.10 ⁻⁵	↓	0,0159	8,07
High dose	Lemniscus médial	6,23.10 ⁻⁴	3,3.10 ⁻⁵	↓	0,0215	6,84
	Matière grise périventriculaire	5,36.10 ⁻³	3,2.10 ⁻⁴	↓	0,0002	15,69
	Cortex associatif latéro-pariétal	4,91.10 ⁻³	1,3.10 ⁻⁴	↓	0,0096	5,25
	Cortex insulaire agranulaire dysgranulaire	1,57.10 ⁻²	7,3.10 ⁻⁵	↓	0,0045	5,83
	Cortex primaire somato-sensoriel des membres antérieurs	1,04.10 ⁻²	2,5.10 ⁻⁴	↓	0,0117	3,35
	Cortex primaire somato-sensoriel des membres postérieurs	4,98.10 ⁻³	1,2.10 ⁻⁴	↓	0,0087	4,16
	Matière grise périventriculaire	3,53.10 ⁻³	1,7.10 ⁻⁴	↓	0,0077	7,46
		5,11.10 ⁻³	2,2.10 ⁻⁴	↓	0,0071	10,21

TABLEAU 38 – Volumes des aires cérébrales significativement modifiées pour les mâles F0 âgés de 20 semaines des groupes "low dose" et "high dose" (n=8 à 10).

- L'aire du cortex visuel primaire est significativement diminué de 6 % pour le groupe LD uniquement
- Les aires des cortex primaires somato-sensoriel des membres antérieurs et postérieurs sont également significativement diminuées entre 3 et 5 % pour les 2 groupes d'exposition. De plus, l'aire du cortex primaire somato-sensoriel du tronc est également diminuée d'un peu moins de 5 % uniquement pour le groupe LD.
- L'aire du cortex moteur primaire est diminuée de 3 % pour le groupe LD uniquement.

9.3.3.2 Impact indirect

9.3.3.2.1 Chez le raton

Une diminution significative de 14 % du volume de la commissure du colliculus supérieur est retrouvée pour les mâles F1 âgés de 4 semaines du groupe LD comparé au groupe contrôle (Tableau 39). C'est également le cas du corps calleux et de la matière blanche sous corticale qui jouent le rôle de connexion inter-hémisphère et dont le volume est diminué de 3 %. L'aire amygdalo-hippocampique, région du cortex péri-amygdalien est significativement diminuée de 9 % pour le groupe HD.

9.3.3.2.2 Chez le rat adulte

Aucune modification du volume des zones cérébrales n'a été observée par IRM sur les rats F1 adultes âgés de 20 semaines pour les groupes LD et HD par rapport au groupe contrôle.

9.3.3.3 Impact transgénérationnel

9.3.3.3.1 Chez le raton

Pour les mâles du groupe LD F3 âgés de 4 semaines, une diminution de 5 % du volume du cortex somatosensoriel primaire par rapport au groupe contrôle est retrouvée (Tableau 41). De plus, pour le groupe HD, une diminution de 6 % du volume du cortex insulaire dysgranulaire ainsi qu'une diminution de 7% du volume du cortex entorhinal ont été retrouvées.

♂ F1 3 sem	Nom de l'aire cérébrale	Volume moyen de l'aire cérébral / volume total moyen du cerveau	Ecart type	Modification du volume de l'aire cérébral par rapport au groupe contrôle	P-valeur	% de modification du volume de l'aire par rapport au contrôle
Low dose	Commissure du colliculus supérieur	8,58.10 ⁻⁵	6,2.10 ⁻⁶	↓	0,0067	14,68
	Corps calleux et matière blanche subcorticale associée	2,9.10 ⁻²	2,8.10 ⁻⁴	↓	0,0126	3,60
High dose	Aire amygdalo-hippocampique	8,18.10 ⁻⁴	7,4.10 ⁻⁵	↓	0,0244	9,42

TABLEAU 39 – Volumes des aires cérébrales significativement modifiées pour les mâles F1 âgés de 4 semaines des groupes "low dose" et "high dose" (n=7 à 8).

♂ F3 3 sem	Nom de l'aire cérébrale	Volume moyen de l'aire cérébrale / volume total moyen du cerveau	Ecart type	Modification du volume de l'aire cérébrale par rapport au groupe contrôle	P-valeur	% de modification du volume de l'aire par rapport au contrôle
Low dose	Cortex somato-sensoriel primaire	$1,10 \cdot 10^{-3}$	$2,5 \cdot 10^{-5}$	↓	0,0261	5,08
High dose	Cortex enthorhinal	$3,63 \cdot 10^{-2}$	$1,3 \cdot 10^{-2}$	↓	0,0294	7,36
	Cortex insulaire dysgranulaire	$5,87 \cdot 10^{-3}$	$6,8 \cdot 10^{-4}$	↓	0,0294	6,41

TABLEAU 40 – Volumes des aires cérébrales significativement modifiées pour les mâles F3 âgés de 4 semaines des groupes "low dose" et "high dose" (n=8).

9.3.3.3.2 Chez le rat adulte

De nombreuses modifications des volumes cérébraux ont été retrouvés chez les mâles F3 âgés de 20 semaines (Tableau 41). Pour le groupe LD, sont retrouvées :

- Une diminution significative de 23 % de l'aire du tractus mamillo-thalamique, connectant l'amygdale, l'hippocampe et le thalamus.
- Une diminution significative de 15 % du volume de la couche glomérulaire du bulbe olfactif accessoire.
- Une diminution de 11 % du volume de la région hypothalamique.
- Une diminution d'un peu moins de 11 % du volume de la partie postérieure de la commissure antérieure, composée de matière blanche et reliant les 2 lobes temporaux.
- Une augmentation significative de 8 % du volume de l'aire 35 de Brodmann.
- Une diminution significative de 5 % du volume du prosencéphale basal
- Une augmentation significative de 5 % du volume du striatum
- Une augmentation de 4 % de l'aire du fasciola cinereum, sous-région de l'hippocampe.

Pour le groupe HD, sont retrouvées :

- Une augmentation significative de 12 % du volume du bras du colliculus supérieur.
- Une augmentation significative de 6 % du volume de la région septale.
- Une diminution significative de 5 % du volume du cornu ammonis 2 de l'hippocampe lié aux cornu ammonis 1, 3 et 4.

De manière concomitante aux groupes LD et HD, sont retrouvées :

- Une diminution significative du volume de la partie antérieure de la commissure antérieure de 6 % et 8 % respectivement.
- Une diminution significative du volume du cornu ammonis 3 de l'hippocampe de 4 % et 5 % respectivement.

♂ F3 19 sem	Nom de l'aire cérébrale	Volume moyen de l'aire cérébral / volume total moyen du cerveau	Ecart type	Modification du volume de l'aire cérébral par rapport au groupe contrôle	P-valeur	% de modification du volume de l'aire par rapport au contrôle
Low dose	Aire péri-rhinal de Brodmann 35	$3,59 \cdot 10^{-3}$	$1,6 \cdot 10^{-4}$	↑	0,0119	8,25
	Cornu ammonis 3	$1,27 \cdot 10^{-2}$	$3,8 \cdot 10^{-4}$	↓	0,0489	4,34
	Couche glomérulaire du bulbe olfactif accessoire	$2,50 \cdot 10^{-4}$	$3,1 \cdot 10^{-4}$	↓	0,0100	15,60
	Fasciola cinereum	$1,78 \cdot 10^{-3}$	$7,0 \cdot 10^{-4}$	↓	0,0451	4,37
	Partie antérieure de la commissure antérieure	$9,40 \cdot 10^{-4}$	$6,0 \cdot 10^{-5}$	↓	0,0338	6,96
	Partie postérieure de la commissure antérieure	$1,65 \cdot 10^{-4}$	$1,0 \cdot 10^{-5}$	↓	0,0298	10,99
	Région basal du prosencéphale	$3,51 \cdot 10^{-2}$	$6,7 \cdot 10^{-4}$	↓	0,0294	5,88
	Striatum	$1,27 \cdot 10^{-2}$	$3,9 \cdot 10^{-4}$	↓	0,0007	11,62
		$4,52 \cdot 10^{-2}$	$1,7 \cdot 10^{-3}$	↑	0,0246	5,10
	Tractus mammillo-thalamique	$6,28 \cdot 10^{-4}$	$7,4 \cdot 10^{-5}$	↓	0,0262	23,14
High dose	Bras du colliculus supérieur	$1,74 \cdot 10^{-4}$	$1,1 \cdot 10^{-5}$	↑	0,0206	12,41
	Cornu ammonis 2	$2,27 \cdot 10^{-3}$	$9,3 \cdot 10^{-5}$	↓	0,0163	7,71
	Cornu ammonis 3	$1,25 \cdot 10^{-2}$	$4,3 \cdot 10^{-4}$	↓	0,0079	5,85
	Partie antérieure de la commissure antérieure	$9,26 \cdot 10^{-4}$	$4,3 \cdot 10^{-5}$	↓	0,0112	8,33
	Région septale	$5,18 \cdot 10^{-3}$	$2,1 \cdot 10^{-4}$	↑	0,0218	6,36

TABLEAU 41 – Volumes des aires cérébrales significativement modifiées pour les mâles F3 âgés de 20 semaines des groupes "low dose" et "high dose" (n=8).

Chapitre 10

Cerveau, neuroendocrinologie et comportement -

Discussion

Depuis peu, les études épidémiologiques ont évalué l'impact des PE autour de la grossesse sur le comportement et le neurodéveloppement des enfants. Même si certaines études ne montrent pas de lien entre l'exposition aux PE, que sont le BPA ou BPS, le TCS ou le MP, et des atteintes comportementales (Braun *et al.*, 2017; Etzel *et al.*, 2018; Tanner *et al.*, 2020), d'autres semblent montrer un lien entre l'exposition maternelle aux PE et les troubles du comportement ou du neurodéveloppement observés chez la descendance. C'est le cas de Jackson Brown *et al.* (2020), qui trouvent un lien entre l'exposition maternelle au TCS et la diminution du quotient intellectuel (QI) chez l'enfant âgé de 8 ans. De même, Stacy *et al.* (2017) retrouvent des atteintes comportementales (externalisation et troubles émotionnels) au même âge, liées à une exposition maternelle au BPA, mais dont les conséquences semblent dépendantes du moment d'exposition durant la grossesse. Lors de l'étude épidémiologique EDEN, sur laquelle notre modèle s'appuie, des troubles du comportement ont été retrouvés chez les garçons à 3 et 5 ans sans modification du QI (Philippat *et al.*, 2017; Nakiwala *et al.*, 2018) : une augmentation de l'exposition au TCS semble être corrélée à une augmentation de l'apparition de symptômes émotionnels (irritabilité, anxiété, dépression), des problèmes de conduite et un comportement d'externalisation (agressivité, impulsivité, ...) à 3 ans uniquement. Des doses croissantes en parabènes semblent également liées à une diminution de la sociabilisation des enfants à 3 ans uniquement, tandis que des doses croissantes en BPA semblent entraîner des problèmes relationnels au même âge, ainsi qu'à des problèmes d'hyperactivité et à une augmentation du comportement d'externalisation à 5 ans. De plus, Philippat *et al.* (2014) retrouvent également sur cette cohorte une tendance à la diminution de la

circonférence crânienne à la naissance due à l'exposition *in utero* au TCS.

Ces impacts retrouvés en épidémiologie posent question quant aux mécanismes sous-jacents de la perturbation par les PE de certaines hormones liées au neurodéveloppement et au comportement. En effet, le système nerveux central synthétise des hormones mais il est également influencé par la bonne sécrétion de celles-ci. Un des exemples les plus connus est celui des hormones thyroïdiennes et leur impact sur le développement cérébral (Bernal, 2007 ; Norman & Henry, 2015). Au niveau épidémiologie, des modifications de la sécrétion de ces hormones semblent être retrouvées en lien avec une exposition au BPA (Rochester, 2013 ; Koutaki *et al.*, 2021). Seulement, un modèle *in vivo* est nécessaire afin de mieux évaluer l'impact des PE sur le comportement et le neurodéveloppement rapporté par les études épidémiologiques. La plupart des études sur modèle rongeur ont analysé l'impact du BPA sur le comportement et ont également retrouvé des modifications de l'anxiété, de la mémoire, de la locomotion ainsi que du comportement reproducteur (Della Setta *et al.*, 2006 ; Fujimoto *et al.*, 2006 ; Masuo *et al.*, 2011 ; Jones *et al.*, 2012 ; Keller *et al.*, 2019). Cependant, pour l'ensemble des études sur modèle rongeur, seul un traitement périnatal a été effectué. A notre connaissance peu d'études font état de l'impact chronique des PE à une dose environnementale, en mélange et sur plusieurs générations, alors que des modifications transgénérationnelles suite à une exposition à 50 $\mu\text{g}/\text{kg}$ de BPA ont été récemment retrouvées *in vivo* sur le comportement moteur (Nesan *et al.*, 2021).

10.1 Impact direct des PE sur les surrénales sans modification du comportement anxieux

Le test comportemental EPM a permis de définir si un comportement anxieux était présent chez les rats. En effet, un rat anxieux passera plus de temps dans un bras fermé qu'un bras ouvert (Kraeuter *et al.*, 2019). Aucune modification par rapport au groupe contrôle n'a été observée lors de ce test et ce pour tous les âges et toutes les générations de mâles. Dans la littérature, il a été retrouvé un comportement anxieux chez le rat exposé au BPA *in utero* ou *via* le lait maternel à de fortes doses (0,4 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{j}$ à 40 $\text{mg}/\text{kg}/\text{j}$) chez les femelles et non chez les mâles (Xu *et al.*, 2012). Cet effet sexe dépendant est également retrouvé par Fan *et al.* (2018) chez des rats sevrés après

exposition des pères à de plus faibles doses de BPA (50 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{j}$), mais aussi par Jones & Watson (2012), après exposition *in utero* à 500 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{j}$. A l'inverse, Souza Da Silva *et al.* (2019) retrouvent une augmentation de l'anxiété uniquement chez les mâles exposés *in utero* à 10 ou 50 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{j}$ de BPS. De même, lors d'exposition de rongeurs à de fortes doses de TCS, une augmentation de l'anxiété de rongeurs mâles a été observée après exposition *in utero* (Tran *et al.*, 2020) ou à l'âge adulte (Tabari *et al.*, 2019) (100 mg/kg/j et 1000, 2000, 4000 mg/kg/j respectivement). Dans notre cas, nous ne retrouvons pas un changement dans le comportement anxieux chez nos rats. Cependant, la dose environnementale utilisée dans notre étude, basée sur une concentration réaliste, est bien plus faible que celle retrouvée dans les études citées précédemment, ce qui pourrait expliquer les différences entre nos résultats et ceux de la littérature et l'absence de comportement anxieux chez les mâles et sur plusieurs générations. Il serait cependant intéressant, au vu des résultats différents selon le sexe, d'évaluer le comportement anxieux chez les femelles.

L'anxiété est un trouble d'origine multiple mais dont de nombreux liens sont établis avec l'axe hypothalamo-surrénalien (Bandelow *et al.*, 2016 et 2017). La communication sur cet axe se fait notamment grâce à l'ACTH synthétisée par l'antéhypophyse et dont la sécrétion est retrouvée augmentée chez les patients atteints de troubles de l'anxiété. Dans notre étude, le taux d'ACTH n'est pas significativement différents entre les groupes pour les générations F0 et F1, excepté pour les HD de la génération F3 âgés de 19 semaines où une diminution significative de ce taux est observée. Dans la littérature, pour des expositions directes, Gbadebo Olukole *et al.* (2019) retrouvent une augmentation significative des taux de corticostérone et ACTH pour des rats mâles exposés directement pendant 14 jours à 10 mg de BPA/kg/j. Pour Medwid *et al.* (2016), seule une augmentation de la corticostérone sans modification des taux d'ACTH circulant a été retrouvée pour des souris exposées *in utero* à des doses de 5 mg de BPA/kg. Panagiotidou *et al.* (2014) retrouvent également une augmentation du taux de corticostérone, mais uniquement chez les femelles exposées périnatalement à 40 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{j}$ de BPA, ce que retrouvent également Poimenova *et al.* (2010) et Zhou *et al.* (2015) avec le même modèle. A l'inverse, Chen *et al.* (2014) montrent une augmentation du niveau de corticostérone et d'ACTH pour des mâles âgés de 12 semaines ayant été indirectement exposés à 2 μg de BPA/kg sans apparition d'un

comportement anxieux. Etant donné nos doses d'expositions bien plus faibles, nous pouvons supposer que l'exposition directe ou indirecte au mélange de PE ne nous permettent pas de retrouver de modification de la sécrétion d'ACTH et donc du comportement anxieux. Nos données sont en accord avec les résultats retrouvés par Repouskou *et al.* (2020) après exposition *in utero* de souris à des doses environnementales d'un cocktail de 8 PE. Cependant, la diminution du taux d'ACTH pour la F3 HD pose question. A notre connaissance, aucune étude ne fait état d'une diminution transgénérationnelle de l'ACTH induite par les PE.

Nous pouvons supposer qu'une diminution de cette hormone pourrait provenir de troubles de l'axe hypothalamo-surrénalien. Une atteinte de cet axe peut avoir différentes origines : un dysfonctionnement surrénalien, par une augmentation de la sécrétion de cortisol inhibant alors la synthèse d'ACTH, ou une modification fonctionnelle de l'axe hypothalamo-hypophysaire, par modification de la production de CRH (ou CRF) par l'hypothalamus ou même de l'ACTH produit par les neurones POMC au niveau de l'hypophyse (Harvey & Sutcliffe, 2010; Higham *et al.*, 2016; Husebye *et al.*, 2021). Au niveau de l'hypophyse et de l'hypothalamus, aucune modification de leur volume n'a été observée pour le groupe HD F3 à 20 semaines, laissant donc entendre une intégrité structurelle de cette aire. Cependant, comme expliqué ci-dessus, il est possible qu'un impact fonctionnel entraîne une modification de la sécrétion d'ACTH, dépendante de la production de la protéine POMC. Dans la littérature, un impact direct du BPA lors d'expositions chroniques à 5 ou 500 $\mu\text{g}/\text{kg}$ sur la production de POMC a été retrouvé (Marraudino *et al.*, 2021). Hua *et al.* (2019) ont également retrouvé cet impact pour une exposition indirecte de rongeurs à des doses de 4 ou 8 mg de TCS/kg/j ainsi qu'une diminution de la transcription de l'ARNm de POMC qui, selon les auteurs, serait due à une hyperméthylation du promoteur du gène POMC. La possibilité d'un impact transgénérationnel du TCS sur la modification de la sécrétion de POMC est donc possible et nécessite d'être évaluée par une analyse du méthylome de l'aire hypothalamo-hypophysaire.

L'impact des PE sur la sécrétion d'ACTH pourrait également entraîner un dysfonctionnement surrénalien. Au niveau de la surrénale, l'impact chronique du mélange de PE que nous avons étudié entraîne une diminution significative du poids de la surrénale des mâles et femelles adultes exposés directement (F0). Cet impact

est retrouvé pour les F1 à 3 semaines puis semble disparaître au fur et à mesure des générations, excepté pour le groupe HD de la génération F3 mâles âgé de 19 semaines. La diminution d'ACTH entraîne donc une diminution du poids relatif des surrénales pour la F3 HD, comme retrouvé dans les cas d'atrophies surrénales (Harvey & Sutcliffe, 2010). Cependant, l'atrophie surrénale, observée de la génération F0 à F1 3 semaines, ne semble pas liée à une modification de la sécrétion d'ACTH et pose donc question.

L'étude de l'impact des PE, et principalement des bisphénols, sur la surrénale a été largement étudiée sur le modèle rongeur. Dans la littérature, cette atrophie surrénale n'est pas retrouvée lors d'expositions aux PE. En effet plusieurs études rapportent plutôt une augmentation du poids des surrénales lors d'exposition à de fortes doses de BPA notamment : Panagiotidou *et al.* (2014) retrouve cette modification sur des rates après exposition *in utero* à 40 µg/kg/j de BPA. Medwid *et al.* (2016) montre ce même impact sur les mâles et femelles exposés *in utero* à 5 mg/kg de BPA ainsi que Gbadebo Olukole *et al.* (2019) après exposition directe à 10 mg/kg de BPA. Nos résultats montrent qu'à faible dose et en mélange, les PE semblent donc entraîner une atrophie des surrénales. L'origine de cette modification et l'impact sur les fonctions surrénales reste cependant à être explorés avec par exemple un dosage de la corticostérone pour l'ensemble des générations, afin d'étudier le fonctionnement de la surrénale.

10.2 Absence d'impact des PE sur l'humeur et l'axe thyroïdienne

Au niveau du test comportemental de Porsolt, aucune modification de l'humeur n'a été observée pour l'ensemble des groupes et des générations. En effet, un rat dit "déprimé" cherchera moins à se débattre et passera plus de temps à être immobile lors de ce test (Castagné *et al.*, 2011). Nos résultats sont cohérents avec une étude réalisée chez des souris exposées *in utero* à un cocktail de 8 PE à des doses environnementales (Repouskou *et al.*, 2020). Ces auteurs n'ont retrouvé une modification de l'humeur qu'à partir de doses 10 fois supérieures. De même, Hao *et al.* (2022b) retrouvent des troubles de l'humeur chez les souris mâles et femelles après exposition

via le lait maternel à 50 ou 100 mg/kg de TCS, doses supérieures à celles retrouvées dans l'environnement, tout comme Nesan *et al.* (2021) après exposition *in utero* de rats à des doses de 50 µg/kg de BPA. Nos résultats, associés à ceux des équipes précédemment citées, suggèrent qu'à doses environnementales les PE ne semblent pas avoir un impact sur l'humeur.

L'humeur est régulée par les hormones thyroïdiennes (Norman & Henry, 2015) et des changements brusques d'humeur peuvent être liés à une mauvaise régulation de l'axe thyroïdien. Dans le cas de notre étude, aucun impact de l'exposition du mélange de PE sur la sécrétion en hormones thyroïdiennes libres n'a été observé pour les rats mâles des générations F0 à F1. Seule une diminution significative du taux de T₄ libre des groupes LD et HD de la génération F3 âgée de 3 semaines a été observée. Cette modification n'est cependant pas retrouvée à 19 semaines pour les rats mâles de la même génération. Dans la littérature, peu d'études sur rongeur ont montré un impact des PE sur le système thyroïdien. Pour le TCS, seules 5 études référencées par Marques *et al.* (2022), montrent une diminution des taux de T₃ et/ou T₄ après expositions courtes et directes de rats à des concentrations de 50 mg/kg à 200 mg/kg/jour (Crofton *et al.*, 2007; Zorilla *et al.*, 2009; Axelstad *et al.*, 2013; Zhang *et al.*, 2018b; Taha *et al.*, 2020). Pour le BPA et le BPS de nombreuses études principalement réalisées sur les espèces aquatiques montrent une diminution de la concentration sérique en T₃ et T₄ (Faheem & Bhandari, 2021). A notre connaissance, peu d'études sur rongeur montrent un impact des bisphénols sur les hormones thyroïdiennes (Fernandez *et al.*, 2018).

Ainsi, à dose environnementale sur mammifères, le mélange de PE ne semble pas avoir d'impact direct ou indirect sur les hormones thyroïdiennes. Cependant, notre étude montre un effet transgénérationnel par la modification transitoire de la T₄ libre pour la génération F3 à l'âge de 3 semaines. Cet effet, visible uniquement au sevrage, a également été retrouvé dans l'étude de Xu *et al.* (2019) pour une exposition *in utero* à 0,1 mg/L de BPA aussi bien pour la T₄ libre que pour la T₄ total : une diminution de ces taux est retrouvée à 21 jours mais pas à 90 jours chez les mâles. Les auteurs ont conclu à une suppression de l'effet dû à une absence d'exposition. Dans notre cas, cette modification intervient sur la génération F3 uniquement et n'est donc pas liée à l'exposition. Une étude plus approfondie est nécessaire afin de mieux comprendre

cette modification transgénérationnelle avec notamment le dosage de la TSH. Sachant que les hormones thyroïdiennes sont également amenées par le lait maternel (Norman & Henry, 2015), il serait intéressant de doser les hormones thyroïdiennes apportées par le lait afin d'évaluer si une diminution du taux en T₄ libre pour la génération F3 3 semaines est liée à une modification de la biodisponibilité de ces hormones dans le lait maternel (Lawrence *et al.*, 2011).

10.3 Exposition aux PE et hyperactivité

Au niveau des tests comportementaux effectués, une augmentation de l'activité motrice lors de l'open field a été retrouvée pour les groupes LD et HD de la génération F0 uniquement. A l'inverse, pour la descendance F1 âgée de 3 semaines, une tendance à la diminution de l'activité motrice a été retrouvée lors de ce même test pour les groupes LD et HD. De la même manière, lors de l'étude épidémiologique EDEN, des troubles du comportement ont été retrouvés chez les garçons à 3 et 5 ans (Philippat *et al.*, 2017; Nakiwala *et al.*, 2018) et notamment des problèmes d'hyperactivité à 5 ans liés au BPA. Les modèles rongeurs sont peu nombreux à avoir exploré cette induction de l'hyperactivité par le BPA : par 2 fois Ishido *et al.* (2004 et 2011) ont retrouvé une augmentation de l'activité motrice après injection intracisternale de fortes doses de BPA. De même, Anderson *et al.* (2013) et Komada *et al.* (2014) retrouvent une hyperactivité liée à une exposition des rongeurs au BPA par VO. Cette hyperactivité a également été observée uniquement pour des souris mâles exposés *in utero* à un cocktail de 8 PE mais à partir de doses 10 fois plus fortes que les doses environnementales (Repouskou *et al.*, 2020).

Schweitzer *et al.* (2012) rapportent des modifications structurales cérébrales chez les patients hyperactifs, notamment une diminution du volume du cortex pré-frontal droit, une diminution du volume de certains ganglions de la base (le noyau caudé gauche et le pallidum) et une diminution du volume du cervelet. Dans notre étude, aucune modification de ces structures n'a été retrouvée par IRM pour les générations F0. Cependant, une diminution du volume du cortex moteur primaire est retrouvée mais uniquement pour le groupe LD suggérant donc une atteinte de cette aire cérébrale. Egalement, une diminution du volume du cortex insulaire agranulaire

dysgranulaire a été retrouvée pour les 2 groupes de la génération F0. Cet impact sur l'insula a été retrouvée chez l'Homme dans les cas d'hyperactivité par Lopez-Larson *et al.* (2012). Cependant cette modification reste encore peu étudiée. Un autre impact structurel, pouvant entraîner une hyperactivité, est celui d'une modification du profil lipidique du cerveau, notamment du cortex frontal (Vancassel *et al.*, 2007; Chen *et al.*, 2020). Des modifications de la composition en acides gras polyinsaturés, notamment en acide arachidonique et acide docosahexaéonique (DHA), nécessaires aux membranes et structures fonctionnelles des neurones, entraîneraient des modifications du développement cérébrale et du comportement (Georgieff & Innis, 2005). Nous pourrions envisager une modification du profil lipidique du cerveau au vu des modifications du profil lipidique hépatique déjà observées dans la littérature lors d'expositions directes à différentes doses de TCS ou lors d'expositions indirectes à différents types de bisphénols, dont le BPS (Meng *et al.*, 2018; Huang *et al.*, 2020).

De manière générale, notre étude montre un impact sur l'activité motrice induite directement par les PE et pourrait être lié à des atteintes de l'organisation cérébrale. Les causes de ces modifications restent à être explorées, notamment grâce aux données de connectivités en cours d'analyse. En effet, Komada *et al.* (2014) retrouvent par exemple une diminution significative des projections neuronales dopaminergiques au niveau du néocortex chez des souris exposés indirectement à 200 μg de BPA/kg/j et chez lesquels un comportement hyperactif est retrouvé.

10.4 Impact transgénérationnel des PE sur les structures cérébrales : quelles conséquences comportementales ?

Les perturbateurs endocriniens semblent impacter le développement normal du cerveau. En effet, lors d'expositions périnatales de rats au BPA, il a notamment été retrouvé une augmentation de la taille des ventricules latéraux (Santoro *et al.*, 2021) mais également des modifications de la prolifération et de la différenciation des neurones de l'hippocampe (Masuo *et al.*, 2011; Chen *et al.*, 2018; Welch & Mulligan, 2022). Peu d'impacts du TCS sur le cerveau ont été observés *in vivo* mis à part à très fortes doses (Tabari *et al.*, 2019). *In vitro* le TCS semble entraîner un stress oxydant et une neurotoxicité des neurones néo-corticaux (Ruszkiewicz *et al.*, 2017). Concernant

le MP, à notre connaissance, aucune étude ne semble mettre en exergue un impact de ce PE sur le cerveau. Afin d'étudier de manière globale l'impact des PE sur le développement des structures cérébrales, nous avons réalisé une analyse par IRM 3D haute résolution chez les mâles. Nos résultats montrent une modification des volumes de plusieurs structures cérébrales pour les groupes LD et HD notamment pour les générations F0 et F3 mais pas du volume cérébral global.

Pour la génération F0, la majorité des modifications observées sont des diminutions des volumes des aires corticales somato-sensorielles responsables du toucher et des informations provenant des vibrisses mais également du cortex associatif latéro-pariétal. De plus, pour cette même génération F0, une autre zone cérébrale fortement modifiée attire l'attention : il s'agit de l'augmentation du volume de la matière grise périventriculaire qui correspond au plancher du 4^{ème} ventricule (Paxinos, 2017). Ce volume est retrouvé augmenté de 15,69 % et 10,21 % pour les groupes LD et HD respectivement et joue notamment un rôle moteur au niveau des muscles de la tête et des yeux et permet également la coordination des mouvements de la tête (Paxinos, 2017). L'ensemble de ces données suggère la possibilité d'un trouble du comportement autour du fonctionnement somato-sensoriel et du repérage spatial. Des troubles du comportement associé à la reconnaissance spatiale ont été retrouvés dans de nombreuses études *in vivo* sur rongeur après expositions à différentes doses de BPA recensé par Welch & Mulligan (2022), mais également par les études de Tran *et al.* (2020) et Chen *et al.* (2018) lors d'expositions de rongeurs au TCS et au BPA respectivement. Ces 2 dernières études discutent de l'impact des PE sur la structure de l'hippocampe et notamment l'altération de connexions dendritiques. Il est à noter que dans notre cas, aucune modification du volume de l'hippocampe n'a été retrouvée pour cette génération. Les analyses de connectivités en cours pourront permettre d'explorer les connexions entre les différentes structures. De plus, afin de relier les modifications structurelles observées au comportement des rats exposés, il serait intéressant de faire de nouveaux tests comportementaux, notamment ceux explorant la reconnaissance spatiale tel que le "Morris water-maze" ou le test de reconnaissance d'objet.

Concernant la génération F1, des modifications du volume du corps calleux et de la zone limbique ont été retrouvées à l'âge de 4 semaines pour les groupes LD et HD

respectivement. Plus précisément, l'aire de la commissure du colliculus supérieur est retrouvée significativement diminuée de 14,68 % pour le groupe LD. Cette structure est composée de substance blanche et permet le relai des informations concernant des comportements complexes tels que l'attention, la navigation dans l'espace et la prise de décision et joue donc un rôle important dans la connectivité de différentes structures (Tardif *et al.*, 2002; Krauzlis *et al.*, 2013; Benavidez *et al.*, 2021). Une modification transitoire de la structure de cette aire n'a, à notre connaissance, jamais été observée dans la littérature, bien qu'il serait intéressant d'évaluer si ces modifications structurelles sont associées à des modifications de la connectivité chez le groupe LD à 3 semaines. Pour le groupe HD, l'aire amygdalo-hippocampique, jouant un rôle notamment dans le développement de la mémoire, la navigation dans l'espace et les émotions, est retrouvée significativement diminuée de 9,42 %. Cette aire, et notamment la zone subgranulaire du gyrus denté, est connue pour contenir des cellules souches neurales permettant une continuité du neurodéveloppement et ce, même après la naissance (Eriksson *et al.*, 1998; Spalding *et al.*, 2013). Cependant ces modifications, bien qu'importantes, ne sont pas retrouvées à l'âge de 20 semaines. Dans les deux cas, ces données semblent indiquer que ces modifications transitoires chez la génération F1 pourraient être dû à une altération du neurodéveloppement. En effet, une modification de la prolifération des cellules souches neurales au niveau de l'hippocampe avaient été retrouvée par Tiwari *et al.* (2015) lors d'exposition *in utero* à des doses de 4 à 400 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{j}$ de BPA ainsi que lors d'exposition *in vitro*. De même, Agarwal *et al.* (2016) retrouvent une inhibition de la prolifération et de la différenciation de ces cellules souches après exposition de rats *in utero* à 40 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{j}$ de BPA.

Pour la génération F3 peu d'aires cérébrales voient leurs volumes modifiés à l'âge de 4 semaines, ce qui n'est pas le cas à l'âge de 20 semaines où de nombreuses aires cérébrales voient leur volume significativement augmenter ou diminuer pour les groupes LD et HD et ce pour un même volume cérébral : il est observé pour les 2 groupes une modification des volumes des aires somato-sensorielles et des aires impliquées dans la mémoire. De telles modifications structurelles sur un modèle transgénérationnel n'ont, à notre connaissance, jamais été observées dans la littérature. L'impact de ces anomalies structurales doit être testé en employant des tests comportementaux appropriés de reconnaissance d'objet et de mémoire.

10.5 Conclusion de l'impact des PE sur le cerveau, la neuroendocrinologie et le comportement

De manière générale, les mélanges de PE à doses environnementales entraînent des anomalies de l'organisation cérébrale sur différentes structures et sur plusieurs générations. Les tests comportementaux réalisés dans cette étude semblent montrer que ces atteintes structurelles n'entraînent pas de modifications de l'humeur ou de l'anxiété mais uniquement une hyperactivité pour la génération F0. Ces tests ayant été réalisés avant de connaître les modifications de structures dans un souci éthique, il est donc nécessaire de mettre en place de nouveaux tests plus spécifiques des fonctions portées par les structures impactées afin d'évaluer l'impact de l'exposition d'un mélange de PE sur d'autres fonctions essentielles comme la mémorisation, le repérage dans l'espace, la reconnaissance d'objet et les atteintes de l'intégration somatosensorielle par exemple.

Au niveau neuroendocrinologique, une atrophie surrénalienne due à l'exposition aux PE a été observée. Les causes et conséquences de cette atteinte structurelle des surrénales restent à être évaluées. De plus, une atteinte de l'axe hypothalamo-surrénalien semble être retrouvée transgénérationnellement pour la plus forte dose sans conséquence sur l'anxiété. Au niveau de la thyroïde, seule une diminution de la T₄ libre a été observée chez les ratons F3 et sans conséquence sur l'humeur. Une analyse plus fine de la composition du lait maternel est nécessaire afin de comprendre cette modification transitoire.

Cinquième partie

Systeme reproducteur

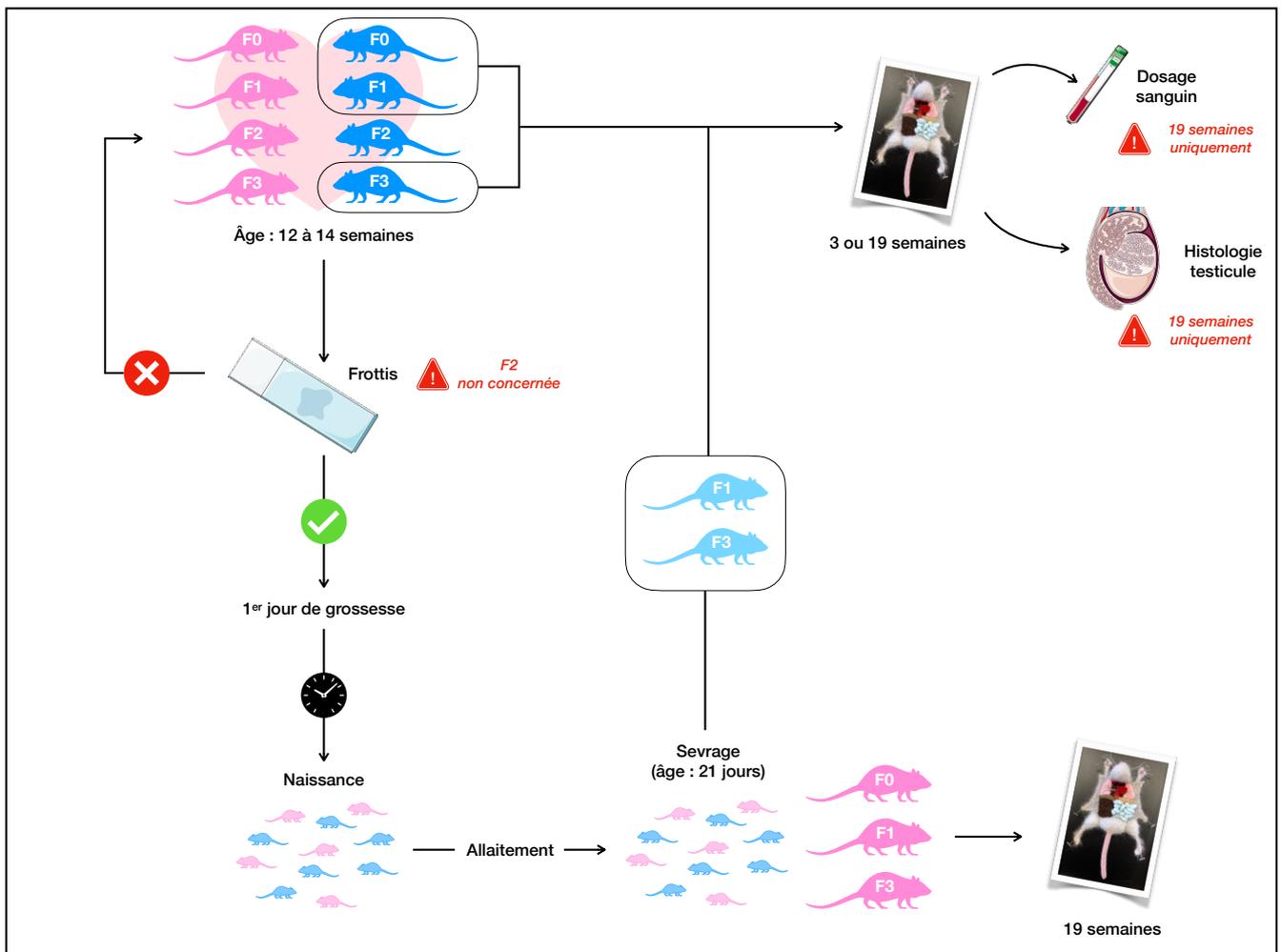


FIGURE 119 – Rappels des méthodes d’exploration du système reproducteur pour les mâles et femelles des différentes générations et des différents âges.

Chapitre 11

Système reproducteur - Résultats

11.1 Impact des PE sur le développement des organes reproducteurs

11.1.1 Impact des PE sur l'appareil reproducteur masculin

11.1.1.1 Impact sur le poids des testicules

A l'âge de 3 semaines aucune modification du poids des testicules n'est observée pour les groupes LD et HD des générations F0, F1 et F3 par rapport aux groupes contrôles des générations respectives (Figure 120).

A l'âge de 19 semaines, aucune modification du poids des testicules droites n'est observée pour les groupes LD et HD des générations F0, F1 et F3 par rapport aux groupes contrôles des générations respectives (Figure 121).

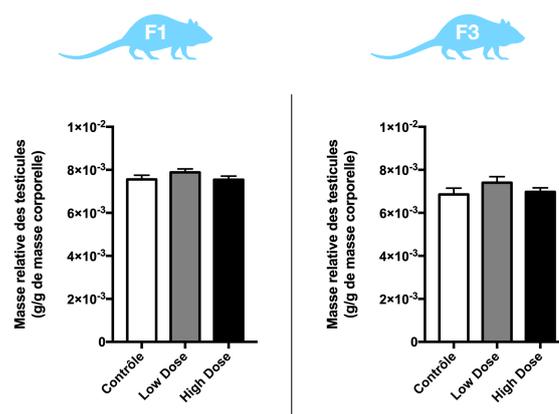


FIGURE 120 – Masse relative des testicules des mâles âgés de 3 semaines pour les générations F1 et F3 (n=36). Les données sont exprimées en moyenne \pm l'erreur type (SEM) et comparées aux données du groupe contrôle.

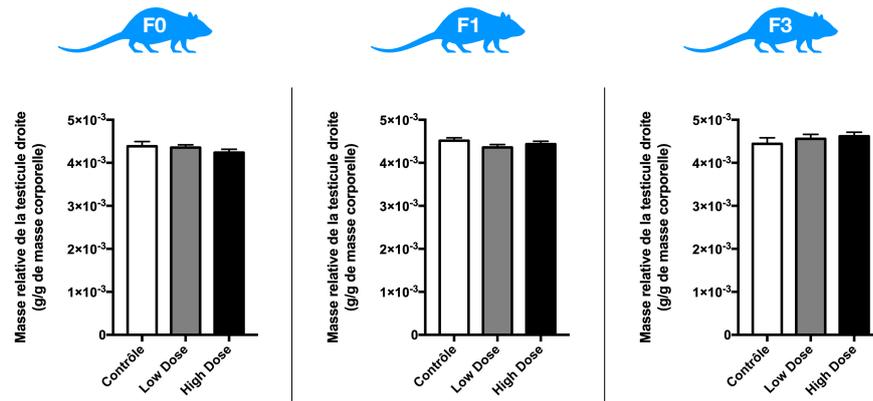


FIGURE 121 – Masse relative des testicules des mâles âgés de 19 semaines pour les générations F0 (n=34 à 46), F1 (n=36) et F3 (n=36). Les données sont exprimées en moyenne \pm l'erreur type (SEM) et comparées aux données du groupe contrôle.

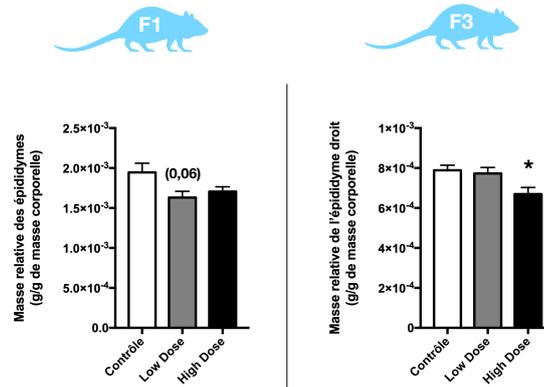


FIGURE 122 – Masse relative des épидидymes des mâles âgés de 3 semaines pour les générations F1 et F3 (n=36). Les données sont exprimées en moyenne \pm l'erreur type (SEM) et comparées aux données du groupe contrôle. Les tendances ($0,1 < p\text{-valeur} < 0,05$) sont exprimées entre parenthèses; * p-valeur $< 0,05$.

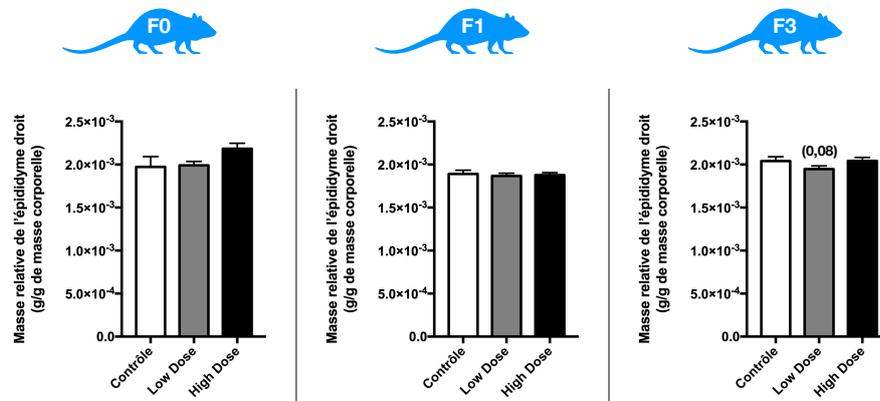


FIGURE 123 – Masse relative des épидидymes des mâles âgés de 19 semaines pour les générations F0 (n=34 à 46), F1 (n=36) et F3 (n=36). Les données sont exprimées en moyenne \pm l'erreur type (SEM) et comparées aux données du groupe contrôle. Les tendances ($0,1 < p\text{-valeur} < 0,05$) sont exprimées entre parenthèses.

11.1.1.2 Impacts sur le poids de l'épididyme

A l'âge de 3 semaines, une tendance à la diminution du poids des épididymes droits et gauches est observée pour le groupe F1 LD uniquement par rapport au groupe contrôle (p -valeur=0,06) (Figure 122). Une diminution significative du poids de l'épididyme droit est observée à l'âge de 3 semaines pour le groupe F3 HD uniquement par rapport au groupe contrôle ($7,9.10^{-3}$ g/g versus $6,7.10^{-3}$ g/g en moyenne, p -valeur=0,03). A l'âge de 19 semaines, une tendance à la diminution du poids de l'épididymes droit est observée pour le groupe F3 LD uniquement. Aucune autre modification du poids de l'épididyme droite n'est observée à l'âge de 19 semaines pour les groupes LD et HD des générations F0 et F1 par rapport aux groupes contrôles des générations respectives (Figure 123).

11.1.2 Impact des PE sur l'appareil reproducteur féminin : poids des ovaires

Aucune modification du poids de l'ovaire droit n'a été mesurée entre le groupe contrôle et les groupes LD et HD chez les femelles âgées de 19 semaines des génération F0, F1 et F3 (Figure 124).

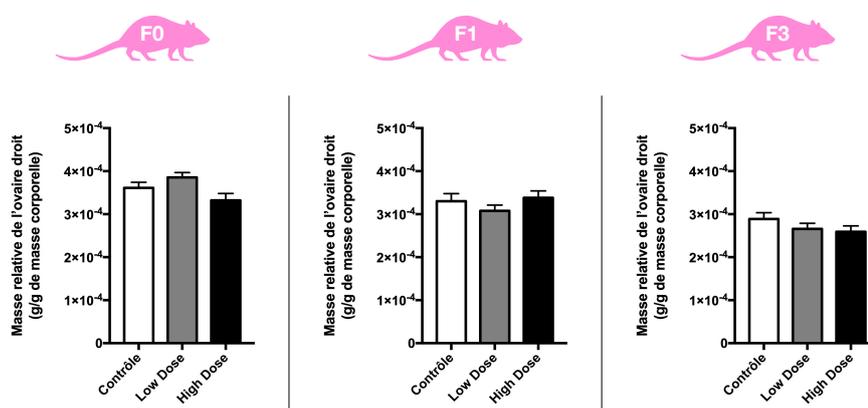


FIGURE 124 – Masse relative des ovaires droits des femelles âgées de 19 semaines pour les générations F0 (n=20 à 31), F1 (n=12 à 14) et F3 (n=16 à 17). Les données sont exprimées en moyenne \pm l'erreur type (SEM) et comparées aux données du groupe contrôle.

11.2 Impact des PE sur la fertilité

11.2.1 Fertilité masculine

11.2.1.1 Dosage de la testostérone

Aucune modification de la quantité de testostérone totale circulante n'a été retrouvée à l'âge adulte pour les groupes LD et HD des générations F0, F1 et F3 par rapport aux groupes contrôles des générations respectives malgré une diminution dose dépendante du taux de testostérone pour la génération F1 (p-valeur < 0,09 pour contrôle versus LD et p-valeur = 0,04 pour contrôle versus HD) (Figure 125).

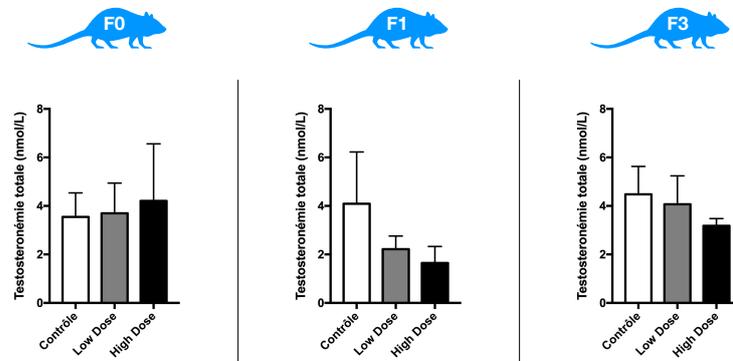


FIGURE 125 – Dosage de la testostérone totale circulante des mâles âgés de 19 semaines pour les générations F0, F1 et F3 (n=10). Les données sont exprimées en moyenne \pm l'erreur type (SEM) et comparées aux données du groupe contrôle.

11.2.1.2 Histologie des testicules

Due à une inclusion post-congélation, le tissu a été dégradé et une analyse fine de la spermatogenèse dans les tubes séminifères n'a pas pu être effectuée. Cependant, des queues de spermatozoïdes ont été observées dans la lumière des tubes séminifères pour les mâles âgés de 19 semaines exposés aux différentes doses d'exposition et pour toutes les générations (Figure 126).

11.2.2 Fertilité féminine

Une tendance à l'augmentation de la stérilité féminine du groupe HD de manière dose dépendante a été observée pour la génération F0 (p-valeur=0,06); aucune autre modification de la fertilité féminine n'a été mesurée pour les générations F1, F2 et F3 (Tableaux 42, 43, 44, 45).

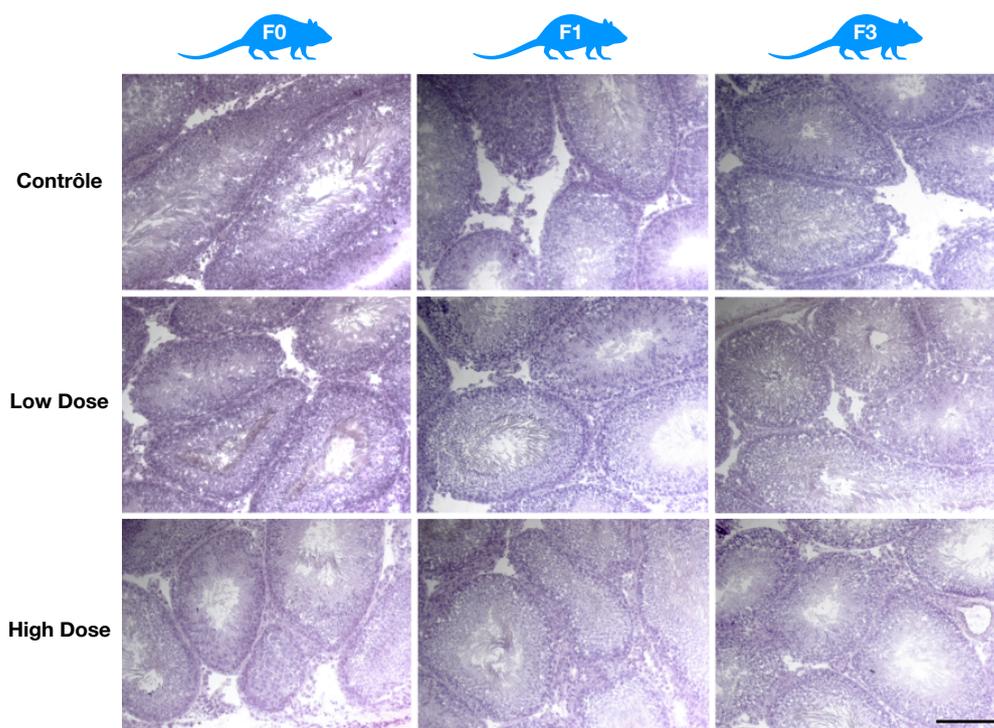


FIGURE 126 – Coupes histologiques des tubes séminifères des mâles âgés de 19 semaines pour les générations F0, F1 et F3 (n=3).

♀ F0	Contrôle	Low dose	High dose
Grossesse dès le 1 ^{er} cycle	93 % (n=26)	85 % (n=35)	82 % (n=28)
Grossesse retardée	7 % (n=2)	12 % (n=5)	3 % (n=1)
Stérile	0 %	3 % (n=1)	15 % † (n=5)

TABEAU 42 – Analyse du succès reproducteur pour les femelles F0. Les données sont exprimées en pourcentage et sont comparées au groupe contrôle. † 0,1 < p-valeur.

♀ F1	Contrôle	Low dose	High dose
Grossesse dès le 1 ^{er} cycle	87 % (n=19)	100 % (n=22)	96 % (n=21)
Grossesse retardée	9 % (n=2)	0 %	0 %
Stérile	4 % (n=1)	0 %	4 % (n=1)

TABEAU 43 – Analyse du succès reproducteur pour les femelles F1. Les données sont exprimées en pourcentage et sont comparées au groupe contrôle.

♀ F2	Contrôle	Low dose	High dose
Grossesse dès le 1 ^{er} cycle	90 % (n=27)	90 % (n=27)	83 % (n=25)
Grossesse retardée	3 % (n=1)	3 % (n=1)	0 %
Stérile	7 % (n=2)	7 % (n=2)	17 % (n=5)

TABLEAU 44 – Analyse du succès reproducteur pour les femelles F2. Les données sont exprimées en pourcentage et sont comparées au groupe contrôle.

♀ F3	Contrôle	Low dose	High dose
Grossesse dès le 1 ^{er} cycle	89 % (n=25)	86 % (n=23)	89 % (n=24)
Grossesse retardée	4 % (n=1)	7 % (n=2)	11 % (n=3)
Stérile	7 % (n=2)	7 % (n=2)	0 %

TABLEAU 45 – Analyse du succès reproducteur pour les femelles F3. Les données sont exprimées en pourcentage et sont comparées au groupe contrôle.

11.3 Impact des PE sur la gestation

11.3.1 Temps de gestation

Une tendance à l'augmentation du temps de gestation d'1 à 2 jours en moyenne est observée pour les groupes LD et HD de la génération F1 (p-valeurs=0,07 et 0,08 respectivement) (Figure 127). Cependant, aucune modification du temps de gestation n'est retrouvée pour les groupes LD et HD des générations F0 et F3 par rapport aux groupes contrôles des générations respectives.

11.3.2 Nombre de petits par portée et sexe-ratio

Le nombre de petits par portée est de 10 en moyenne par mère et le sexe-ratio (5 mâles et 5 femelles par mère) n'est pas modifié de la F0 à la F3 (Figure 128). Seule une tendance à la diminution du nombre de femelles F2 HD nées des mères F1 HD est retrouvée.

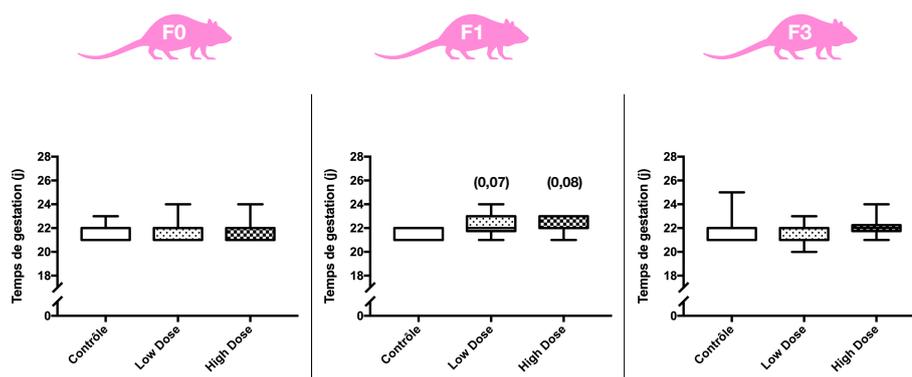


FIGURE 127 – Temps de gestation moyen des femelles pour les générations F0 (n=19 à 28), F1 (n=11 à 13) et F3 (n=15 à 18). La distribution des données est représentée autour de la médiane sous forme de "box plot" et des barres d'erreurs représentant le maximum et minimum. Les données des groupes exposés sont comparées aux données du groupe contrôle. Les tendances ($0,1 < p\text{-valeur} < 0,05$) sont exprimées entre parenthèses.

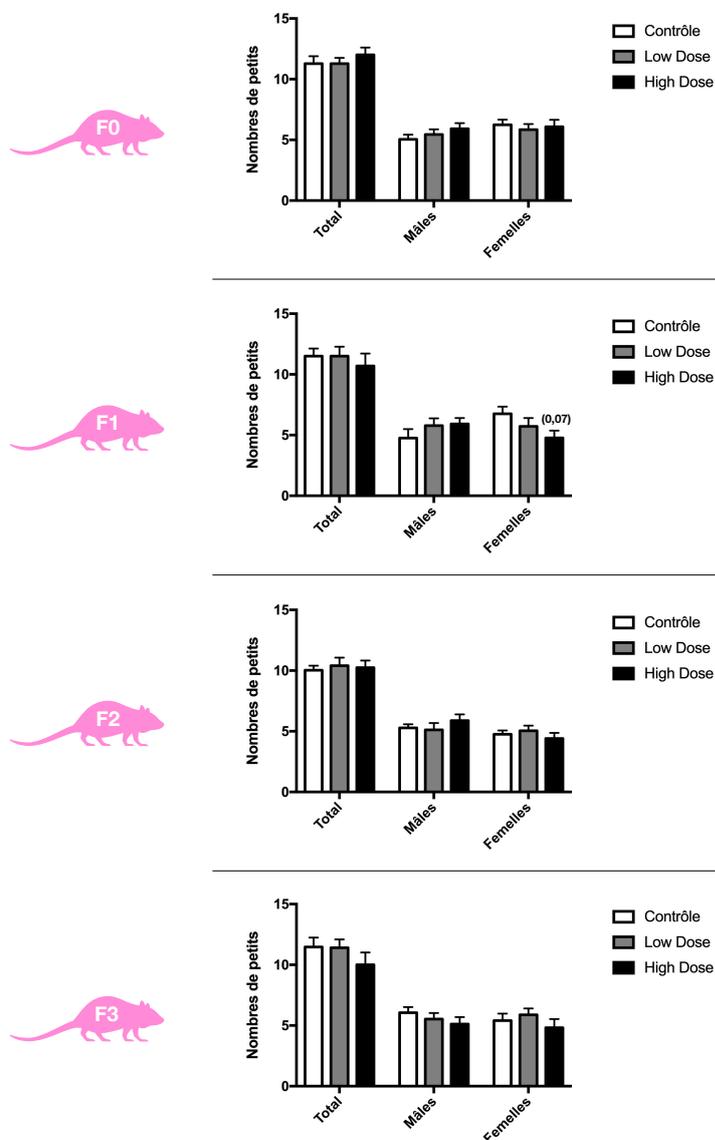


FIGURE 128 – Nombre total et sexe-ratio des portées des femelles F0 (n=22 à 32), F1 (n=12 à 14), F2 (n=25 à 28) et F3 (n=17). Les données sont exprimées en moyenne \pm l'erreur type (SEM) et comparées aux données du groupe contrôle. Les tendances ($0,1 < p\text{-valeur} < 0,05$) sont exprimées entre parenthèses.

Chapitre 12

Système reproducteur - Discussion

Du fait de leur action sur les hormones, la grande majorité des études sur les perturbateurs endocriniens portent sur la thématique de la reproduction aussi bien masculine que féminine. Il est cependant difficile de conclure quant à l'impact réel des perturbateurs endocriniens sur la reproduction au vu des doses utilisées dans ces études : de manière générale, le BPA et le BPS entraîneraient des modifications de la qualité du sperme telles que des asthénospermies et oligospermies (Al-Hiyasat *et al.*, 2002; Shi *et al.*, 2017 et 2018; Dai *et al.*, 2021; Ullah *et al.*, 2021; Wu *et al.*, 2021; Darghouthi *et al.*, 2022) ainsi qu'une apparition précoce de la puberté féminine et des troubles hormonaux selon différentes études (Honma *et al.*, 2002; Nikaido *et al.*, 2004; Ryan *et al.*, 2006) et ce uniquement à de fortes doses d'expositions. De même le TCS semble perturber le taux d'hormones stéroïdiennes sexuelles circulantes à très forte dose (Kumar *et al.*, 2009; Zorilla *et al.*, 2009; Feng *et al.*, 2016; Cao *et al.*, 2018; Pryianka *et al.*, 2020). Peu d'étude sur le MP existe à notre connaissance et son impact resterait très limité (Vo *et al.*, 2010). Malgré tout, il reste intéressant de vérifier ces impacts dans le cas d'un modèle utilisant cette fois une exposition chronique d'un mélange de PE à des doses environnementales et réalistes et mesurant cet impact sur plusieurs générations.

12.1 Impact des PE sur la fertilité masculine

Dans notre étude, aucune modification des organes reproducteurs n'a été retrouvée, exceptée une diminution du poids des épидидymes pour la F3 HD à l'âge de 3 semaines; impact non retrouvé après développement des organes reproducteurs à 19 semaines. Également aucune modification de la testostéronémie n'a été retrouvée pour les mâles adultes des différentes générations. On remarque cependant pour la

génération F1 une légère diminution de ce taux en fonction des doses d'exposition. Cette absence de modification de la testostéronémie peut donc s'expliquer par les doses environnementales utilisées. En effet, le BPS entraînerait des diminutions des taux de testostérone sérique à très forte dose uniquement (50 mg/kg de poids corporelle), et ce après des expositions courtes ou chroniques (Ullah *et al.*, 2016; Ullah *et al.* 2018a; Ullah *et al.*, 2018b; Ullah *et al.*, 2021). De même, pour le TCS, aucun impact sur la reproduction masculine n'a été retrouvé et ce jusqu'à 8 mg/kg de poids corporel (Vandressa Pernoncini *et al.*, 2018) et ce sur plusieurs génération (Montagnini *et al.*, 2021).

Au niveau des coupes histologiques, la production de spermatozoïdes est bien présente pour toutes les générations et tous les groupes. Il serait cependant intéressant de vérifier les paramètres spermatiques (téatospermie, oligospermie et asthénospermie) dans une nouvelle étude en récupérant l'éjaculat des mâles exposés ainsi que de définir les différents stades de la spermatogenèse grâce aux coupes des tubes séminifères. En effet, Shi *et al.* (2017) font état d'une augmentation de la testostéronémie lors d'expositions de souris à de forte dose de BPS (10mg/kg) associée à une oligospermie et sans modification de la motilité des spermatozoïdes. De même, Ullah *et al.*, (2018b) observent également cette oligospermie uniquement pour de fortes de doses de différents types de bisphénols lors d'expositions chroniques. Riad *et al.* (2018) retrouvent également une oligospermie et une asthénospermie après une exposition de 8 semaines à 50 mg de TCS/kg de poids corporelle.

Ces résultats sont consistants avec la littérature puisque l'impact des PE sur la fertilité masculine ne semble être observé qu'à de fortes doses de PE comme exposé précédemment (Ullah *et al.*, 2016; Ullah *et al.*, 2018a; Ullah *et al.*, 2018b; Vandressa Pernoncini *et al.*, 2018; Montagnini *et al.*, 2021; Ullah *et al.*, 2021).

12.2 Impact des PE sur la fertilité féminine

Les études de l'impact des PE sur la fertilité féminine sur modèle rongeur existent mais sont moins nombreuses que celles traitant de la fertilité masculine.

Du côté de la reproduction féminine, aucune modification du poids de l'ovaire droit n'a été retrouvée pour les femelles à l'âge de 19 semaines. Un léger impact

sur la fertilité a cependant été retrouvé mais uniquement pour la génération F0 : une tendance à l'augmentation de la stérilité a été observée pour le groupe HD de cette génération. Il est intéressant de noter que les femelles stériles du groupe HD ont toutes été disséquées afin de vérifier si une grossesse avait bien eu lieu. Des reliquats d'embryons atrophiés ont été retrouvés dans l'utérus comme si le maintien des fœtus dans l'utérus n'avait pas pu se faire correctement. Un tel symptôme est observé chez les rates qui ne conservent pas de stimulus copulatoire afin de permettre la synthèse de prolactine, hormone permettant le maintien du corps jaune et de la grossesse chez le rat (Freeman *et al.*, 2000; Maeda *et al.*, 2000). Pourtant, ce paramètre avait été pris en compte lors de la reproduction. En effet les rates sont restées avec les mâles pendant 2 semaines. Dans ce cas plusieurs possibilités existent.

La 1^{ère} option est que les rates ont été inséminées peu avant le retrait des rats mâles des cages, c'est à dire après 2 semaines de reproduction, ce qui revient à dire que la grossesse a été retardée jusqu'au 4^{ème} cycle minimum. La question reste à savoir pourquoi la grossesse pourrait-elle être autant retardée. Plusieurs explications peuvent exister comme un pool d'ovocytes diminué comme retrouvé par Ahsan *et al.* (2018) lors d'exposition de rongeur à de fortes doses de BPA ou BPS (50 mg/kg/j). Il serait donc intéressant de regarder histologiquement le pool de follicules dans les ovaires. Cela pourrait également être dû à des perturbations du bon fonctionnement des hormones féminines permettant l'ovulation comme retrouvé lors d'expositions de rongeurs à de fortes doses de BPA, BPS (Ahsan *et al.*, 2018) ou TCS (Feng *et al.*, 2016; Cao *et al.*, 2018). Une nouvelle étude avec un dosage des hormones sexuelles en complément d'un suivi du cycle serait nécessaire pour confirmer cette hypothèse.

La 2^{ème} option, plus probable, est qu'une modification de la sécrétion de prolactine pourrait être retrouvée chez ces femelles. Un tel effet a été retrouvé lors d'expositions de femelles enceintes à de fortes doses de TCS (Feng *et al.*, 2016). Une synthèse de prolactine diminuée pourrait entraîner un manque de progestérone synthétisée par le corps jaune après fécondation; production dépendante de la synthèse de prolactine chez le rat et non chez l'Homme (Freeman *et al.*, 2000; Maeda *et al.*, 2000). Afin de vérifier cette hypothèse, il serait intéressant, à partir d'une nouvelle étude, de suivre le taux de prolactine dans le sérum de femelles enceintes en parallèle d'un

suivi de cycle. Cette tendance à la diminution de la stérilité lors de l'exposition directe des femelles mériterait également d'être explorée à de plus forte dose afin de voir si cet effet est bel et bien dose-dépendant.

Pour les femelles gestantes, aucune modification du temps de gestation n'a été observée. Seule une légère tendance à l'augmentation du temps de gestation a été retrouvée pour les groupes HD et LD de la génération F1. Cependant, cette seule modification ne permet pas de conclure à un trouble de la reproduction pour la génération F1. Aucune modification du nombre de petits par mère ni du ratio mâles/femelles n'a été retrouvée.

De manière générale, les mesures n'ont pas permis de mettre en évidence des troubles de la fertilité féminine importante lors d'expositions de rates à des doses environnementales de PE. De la même manière que précédemment, l'ensemble de la littérature met en exergue des effets sur la fertilité féminine uniquement à de très fortes concentrations. Ahsan *et al.* (2018) font état d'une diminution du nombre de petits par mère ainsi qu'une diminution de la concentration sanguine en LH et FSH pour des femelles exposées à 50 mg/kg/j de BPS. A l'inverse, Feng *et al.* (2016) n'observent pas de modification de la sécrétion des hormones LH et FSH avec le TCS mais plutôt des diminutions des taux d'estradiol et progestérone circulant lors d'exposition à des doses allant de 100 à 600 mg/kg/j tout comme Cao *et al.* (2018). Une seule étude étudie l'impact du bisphénol à faible concentration et de manière transgénérationnel à notre connaissance : Shi *et al.* (2019) ne montrent aucun impact transgénérationnel du BPA et BPS (doses 0,5 et 50 µg/kg/j pour les 2 PE) sur la fertilité féminine chez la souris à l'âge de 3 mois. Seul un faible impact sur le succès de grossesse à l'âge de 6 et 9 mois est observé. Nos résultats sont donc consistants avec la littérature. Dans ce contexte, il serait tout de même intéressant d'utiliser ce même cocktail à de plus fortes doses et sur des âges plus avancés afin de déterminer si des impacts sur la fertilité féminine sont retrouvés et si ces impacts peuvent être transmis sur plusieurs générations.

12.3 Conclusion de l'impact des PE sur la reproduction

De manière générale, les impacts sur la reproduction rapportés par la littérature ne sont observables qu'à fortes doses et n'ont pas été retrouvés ici lors d'expositions de rats à des doses environnementales. Seule une faible augmentation de la stérilité concentration dépendante a été observée pour la génération F0. Il pourrait être intéressant d'utiliser une dose bien plus forte afin de voir si la stérilité apparaît et, si oui, à partir de quelle concentration. Cependant ces doses seraient potentiellement extrêmes par rapport à celles auxquelles nous sommes réellement exposés. Dans le cas de notre étude, l'exposition à un cocktail de PE à doses environnementales semble n'avoir qu'un impact limité sur la fertilité aussi bien masculine que féminine et ce, sur plusieurs générations.

Sixième partie

Discussion générale et perspectives

Mâles - Métabolisme		F0	F1		F3	
		19 sem	3 sem	19 sem	3 sem	19 sem
Prise de poids (4 à 12 sem)		=	=	=	=	=
Prise alimentaire (4 à 12 sem)		↑ (LD & HD)	↑ (LD & HD)			=
Glycémie à jeun		=	↓ (LD)	=	=	=
Poids	Au sevrage (21j)		↑ (LD & HD)			↓ (HD)
	Lors de l'euthanasie	=	↑ (LD)	=	=	↑ (LD)
Masses relatives des organes	Foie	=	=	↑ (HD)	=	=
	Pancréas	=	=	=	=	=
	TA épидидymal	=	=	↓ (LD)	=	=
	TA mésentérique	=	=	=	=	=
	TA rétro-péritonéal	=	=	↓ (LD)	=	=
	TA total	=	=	=	=	=
	Gastrocnémien	↑ (LD)	↑ (LD)	↑ (LD)	=	=
	Plantaire	↑ (LD)	=	=	=	↑ (LD)
	Soléaire	=	=	=	=	=
	Muscle total	↑ (LD)	=	↑ (LD)	=	=
Paramètres sanguins	Cholestérol total	=	↑ (LD)	=	=	=
	Triglycérides	=	=	=	=	=
	ASAT	=	=	↑ (HD)	=	=
	ALAT	=	=	=	=	↑ (HD)
	Phosphatase alcaline	=	=	=	=	=
	CPK	↓ (LD & HD)	=	=	=	=
	Troponine I	=	=	=	=	=
	Urée	↑ (LD)	=	=	=	=
	Créatinine	↑ (LD)	=	=	=	=
	Acide urique	=	↓ (LD & HD)	=	=	=
Test de tolérance	Glucose	=	=	=	=	=
	Insuline	↓ (HD)	=	=	=	=
Insulinémie à jeun		=	=	↑ (HD)	=	=
Insuline intra-pancréatique		=				
Sensibilité récepteurs insuline	Foie		=	↑ (HD)	=	=
	Gastrocnémien		=	=	=	=
Glycogène tissulaire	Hépatique	=		=		=
	Musculaire	=		=		=
	Total	=		=		=
Triglycérides tissulaires	Hépatique	=		↓ (HD)		=
	Musculaire	=		↑ (HD)		=
	Total	=		↓ (HD)		=
Mitochondries hépatiques	Activité citrate synthase	=	=	=	=	=
	Consommation d'O ₂	↑ (LD)	=	=	=	=
	Couplage	=	=	=	↓ (HD)	=
	Production de ROS	↑ (LD)	=	=	=	=
	Expression du complexe I	=	=	=	=	↓ (LD)
	Expression du complexe II	=	↓ (HD)	=	↓ (HD)	=
	Expression du complexe III	↑ (LD)	=	=	=	↓ (LD)
	Expression du complexe IV	=	=	=	=	=
Expression du complexe V	=	=	=	=	=	
Stress oxydant hépatique	TBARS	=	=	↓ (HD)	=	↓ (HD)
	Thiols	=	=	=	=	=
	FRAP	=	=	=	=	=
	Gluthation peroxydase	=	=	=	↑ (HD)	=

TABLEAU 46 – Tableau récapitulatif des résultats sur le métabolisme des mâles à l'âge de 3 semaines (sem) et à l'âge adulte pour les groupes low dose (LD) et high dose (HD) par rapport au groupe contrôle. ALAT, alanine aminotransférase; ASAT, aspartate aminotransférase; CPK, créatine phosphokinase; FRAP, "ferric ion reducing antioxidant power"; ROS, dérivés réactifs de l'oxygène; TA, tissu adipeux; TBARS, "thiobarbituric acid reactive substances".

Mâles		F0	F1		F3	
		19 sem	3 sem	19 sem	3 sem	19 sem
Cerveau, neuroendocrinologie et comportement						
Masse relatives des organes	Surrénale	↓ (HD)	=	=	=	↓ (HD)
	Cerveau	=	↓ (LD)	=	=	=
Volume total du cerveau (IRM)		=	=	=	=	=
Paramètres sanguins	T ₃ libre	=	=	=	=	=
	T ₄ libre	=	=	=	↓ (LD & HD)	=
	ACTH	=	=	=	=	=
Comportement	Activité motrice	↑ (LD & HD)	=	=	=	=
	Anxiété	=	=	=	=	=
	Dépression	=	=	=	=	=
Système reproducteur						
Masses relatives des organes	Testicules	=	=	=	=	=
	Epididymes	=	=	=	↓ (HD)	=
Testostéronémie		=		=		=

TABLEAU 47 – Tableau récapitulatif des résultats sur les systèmes neuro-endocrinien et reproducteur des mâles des mâles à l'âge de 3 semaines (sem) et à l'âge adulte pour les groupes low dose (LD) et high dose (HD) par rapport au groupe contrôle. ACTH, hormone corticotrope; IRM, imagerie par résonance magnétique; T₃, triiodothyronine; T₄, thyroxine.

Femelles		F0	F1	F2	F3
Métabolisme					
Prise de poids (4 à 12 sem)		=	=	↑ (HD)	↑ (LD)
Prise alimentaire (4 à 12 sem)		=	↑ (HD)	=	↑ (LD)
Glycémie gestationnelle	7j de gestation	=	=		=
	18j de gestation	=	=		=
Glycémie à jeun		=	=		=
Poids	Au sevrage (21j)		↑ (HD)	↑ (LD)	↓ (HD)
	Au moment de l'euthanasie	=	=		=
Masses relatives des organes	Foie	↓ (HD)	=		=
	Pancréas	=	=		=
	TA épидидymal	=	=		=
	TA mésentérique	=	=		=
	TA rétropéritonéal	=	=		=
	TA total	=	=		=
	Gastrocnémien	=	=		=
	Plantaire	↑ (LD)	=		=
	Soléaire	↑ (LD)	=		=
Muscle total	↑ (LD)	=		=	
Cerveau, neuroendocrinologie et comportement					
Masses relatives des organes	Surrénale	↓ (LD & HD)	=		=
	Cerveau	=	=		=
Système reproducteur					
Masses relatives des ovaires		=	=		=
Succès reproducteur		↓ (HD)	=	=	=
Temps de gestation		=	=		=
Nombre de petits par mère	Femelles	=	=	=	=
	Mâles	=	=	=	=
	Total	=	=	=	=

TABLEAU 48 – Tableau récapitulatif des résultats des femelles pour les groupes low dose (LD) et high dose (HD) par rapport au groupe contrôle. TA, tissu adipeux.

Chapitre 13

Discussion générale

13.1 Rappel des objectifs de la thèse

Depuis 2006, la question de l'impact des PE sur la santé a pris de l'ampleur dans la recherche scientifique. Les nombreuses études menées semblent cependant se heurter aux mêmes problématiques afin de comprendre l'impact réel de ces produits chimiques sur la santé. La première est la problématique de la dose. Comme expliqué au début de ce manuscrit, la courbe effet-dose est remise en question par une partie des scientifiques pour décrire l'impact des PE. La seconde est la problématique du cocktail. En effet, notre environnement est constitué de nombreuses molécules synthétiques ou naturelles et l'impact des associations de ces molécules n'est pas encore établi. Enfin, la question novatrice de l'impact à très long terme, notamment sur l'apparition de pathologies chez les générations suivantes, a vu le jour ces dernières années avec la théorie des DOHaD. Afin d'aider à répondre aux différentes questions posées dans le contexte de l'étude des PE, notre étude a pris en compte ces 3 problématiques Celle-ci s'est appuyée sur les concentrations d'expositions retrouvées chez les femmes enceintes dans les études épidémiologiques françaises EDEN et SEPAGES et les a étudiées sur différents systèmes que sont la reproduction, le métabolisme énergétique, le comportement et les structures cérébrales chez le rat.

13.2 Rappels des résultats selon les problématiques abordées

13.2.1 Problématique de la dose

Sur l'ensemble des systèmes physiologiques étudiés, il est possible d'observer des effets-doses linéaires et non linéaires selon les facteurs étudiés. Au niveau du

métabolisme, il est observé un "effet dose-dépendant" sur la prise de poids des petits lors du sevrage (F1, F3 et F4); lors des tests de tolérances au glucose (F0 et F1 âgés de 3 semaines); certains dosages sanguins tel que la CPK (F0), les ASAT (F1 19 semaines) et ALAT (F3 19 semaines), ainsi que l'insulinémie des F1 19 semaines; certaines mesures de la consommation d'O₂ et la production de ROS par la mitochondrie hépatique pour les F1 19 semaines et F3 3 semaines ainsi que le dosage des facteurs du stress oxydant de la génération F1 19 semaines et F3 aux âges de 3 et 19 semaines. De même au niveau neurologique, avec les mesures du poids des surrénales des mâles et femelles adultes; le dosage sanguin de la T₄ libre des F3 3 semaines, de l'ACTH des F3 à l'âge de 19 semaines ainsi que la mesure de l'activité motrice de la génération F0. Au niveau du système reproducteur, cet effet est également observé notamment avec l'apparition de troubles de la reproduction en fonction des doses chez les femelles F0.

Mais il a également été observé un "effet-dose en U" notamment au niveau des résultats sur le métabolisme avec une augmentation de la masse relative des muscles jusqu'en F3, une augmentation de la production de ROS et la consommation d'O₂ par les mitochondries hépatiques (F0 LD), une diminution de la masse relative de tissu adipeux, une prise de poids des petits lors du sevrage pour la F2 uniquement et sur le dosage de la cholestérolémie. Au niveau neurologique, seule la diminution de la masse relative du cerveau des F1 âgés de 3 semaines semble suivre un effet-dose non-monotone. Aucun effet-dose non-monotone n'est observé au niveau de la reproduction.

De manière générale, on observe ici un effet-dose linéaire plutôt que sous forme de U pour l'ensemble des compartiments et générations étudiés. Cependant, certains effets semblent suivre une courbe en U. Afin de réellement définir la courbe effet-dose suivie par les PE sur ces derniers résultats, il est nécessaire de tester *a minima* une 3^{ème} dose, par exemple 100 fois plus importante que la HD. En effet, en utilisant peu de concentrations il est possible d'observer parfois cette "courbe en U" mais qui peut être trompeuse. Des tests nécessitant au minimum 3 doses + 1 contrôle sont donc requis pour des études toxicologiques permettant un suivi de l'effet-dose du composé, comme expliqué dans les guidelines de l'"European Medicines Agency" (EMA) et l'"European Chemical Agency" (ECHA) en accord avec les guidelines de

l'Organisation de Coopération et de Développement Economiques (OCDE) (Combes *et al.*, 2004; *European Medicines Agency*, 2010).

Cet effet-dose dépendant est retrouvé dans de très nombreux articles qui étudient *a minima* 3 doses de PE + 1 contrôle sur rongeur, aussi bien au niveau du métabolisme que du système reproducteur et neurologique. C'est par exemple le cas de Zhang *et al.* (2018a) qui montrent un effet dose-dépendant du BPS sur les marqueurs ALAT, ASAT, le stress oxydant hépatique ainsi que l'intégrité du tissu hépatique chez la souris exposée directement. Ishido *et al.* (2004) montrent un effet dose-dépendant du BPA sur l'augmentation de l'activité motrice du rat directement exposé au BPA. Ahsan *et al.* (2018) observent également un effet dose-dépendant du BPS et BPA sur la sécrétion des hormones féminines, sur le poids des ovaires et les réserves ovocytaires chez le rat. Ces mêmes résultats sont retrouvés par Al-Hiyasat *et al.* (2002); Chitra *et al.* (2003); Dai *et al.* (2021) et Ullah *et al.* (2018a, 2018b et 2021) qui ont également étudié l'impact du BPA sur la reproduction masculine et/ou féminine. De même, pour le TCS, Cao *et al.* (2018) montrent un impact dose-dépendant de ce PE sur la sécrétion des hormones féminines, sur le poids des ovaires et les réserves ovocytaires chez la souris tout comme Feng *et al.* (2016) le retrouvent chez le rat. Kumar *et al.* (2009) et Pryianka *et al.* (2020) montrent ce même effet dose-dépendant du TCS sur les hormones masculines, le poids des organes reproducteurs et la spermatogenèse chez le rat directement et indirectement exposé. Enfin, Tabari *et al.* (2019) observent cet effet dose-dépendant du TCS sur le comportement anxieux, la quantité de neurones présents dans le cortex et l'hippocampe, tout comme Zorilla *et al.* (2009) qui retrouvent des diminutions dose-dépendantes du taux de T₄ total dans le sang et sur l'activité des enzymes de détoxification du foie.

A notre connaissance, seuls 3 articles ne montrent pas cet effet-dose linéaire mais un effet non-monotone ou dit "en U" avec un minimum de 3 doses de PE + 1 contrôle *in vivo* sur rongeur : Jones *et al.* (2011) retrouvent un effet-dose non-monotone lors de l'exploration du comportement sexuel des rats mâles après exposition directe ou indirecte à 4 doses de BPA. De même, Marmugi *et al.* (2012) ont retrouvé ce même effet sur l'insulinémie et la triglycémie de souris exposées au BPA. Enfin, Akingbemi *et al.* (2004) retrouvent cette courbe en U du BPA sur les taux de LH et testostérone

chez des rats mâles exposés directement.

Malgré tout, la théorie de cet effet-dose non-monotone des PE est très présente dans la littérature scientifique (Li *et al.*, 2007; Vandenberg *et al.*, 2009; Vandenberg *et al.*, 2012; Vandenberg, 2014; Beronius & Vandenberg, 2015) et dans les rapports effectués par certaines instances comme l'OMS en 2012 (*World Health Organization*, 2012). Ces articles semblent s'appuyer sur les nombreuses publications utilisant 2 doses de PE + 1 contrôle, considérés également comme une "dose" dans ce cas (Dekant *et al.*, 2013; Lagarde *et al.*, 2015). Or il est difficile de définir l'effet-dose de cette manière comme expliqué précédemment. Mais les articles citant la non-monotonie des courbes effet-dose s'appuient surtout sur les courbes retrouvées *in vitro* (Lagarde *et al.*, 2015). Un des exemples les plus cités par les scientifiques défendant l'existence d'un effet-dose non-monotone des PE (Vandenberg *et al.*, 2009; Vandenberg *et al.*, 2012; Vandenberg, 2014; Beronius & Vandenberg, 2015) est l'étude menée par Welshons *et al.* (2003). Cette étude montre une forme de "courbe en U" obtenue après expositions de cellules cancéreuses à différentes doses d'œstrogènes. Une prolifération des cellules cancéreuses est observée pour les faibles doses d'œstrogènes, suivi d'un plateau et d'une diminution du nombre de cellules dans le puits. Cette interprétation de la courbe est cependant erronée comme beaucoup de scientifiques l'ont fait remarquer (Ashby, 2003; Goodman *et al.*, 2009; Dekant *et al.*, 2013). On observe ici, en fait, 2 courbes linéaires : une première courbe linéaire qui correspond à la croissance cellulaire, puis une deuxième courbe, également linéaire, qui correspond à la cytotoxicité des œstrogènes. Cette mauvaise interprétation de la courbe peut donc entraîner un biais de raisonnement concernant le fonctionnement pharmacologique aussi bien des hormones, qui suivent la loi de Paracelse, que celui des PE (Rang, 2006; *World Health Organization*, 2012; Zoeller *et al.*, 2012).

De ce fait, il existe aujourd'hui un débat très important dans la communauté scientifique autour de l'existence des effets-doses non-monotones des PE. De manière générale, la littérature scientifique autour des PE ne semble pas retrouver cette courbe en U lorsque plus de 3 doses sont testées *in vivo* sur rongeur (Al-Hiyasat *et al.*, 2002; Ashby, 2003; Chitra *et al.*, 2003; Ishido *et al.*, 2004; Goodman *et al.*, 2009; Kumar *et al.*, 2009; Feng *et al.*, 2016; Dekant *et al.*, 2013; Ahsan *et al.*, 2018; Ullah *et al.*, 2018a et 2018b; Zhang *et al.*, 2018; Tabari *et al.*, 2019; Pryianka *et al.*, 2020; Dai

et al., 2021; Ullah *et al.*, 2021). Il reste bien évidemment important de tester les PE à différentes concentrations (et avec un minimum de 3 doses différentes) aussi bien faibles que fortes afin d'aider les différentes instances de santé publique et environnementale à identifier les composés toxiques, aussi bien pour l'Homme que pour la faune sauvage. Cependant, il est aujourd'hui difficile d'affirmer avec certitude que les PE ne suivent pas la loi de Paracelse.

13.2.2 Problématique de l'effet cocktail

Certains effets cocktail de notre mélange de PE sont similaires à ceux rapportés dans les publications n'étudiant qu'un seul des 3 PE, tandis que d'autres semblent bien différents, voire complètement opposés à ce qui est rapporté par la littérature scientifique.

Au niveau du métabolisme, aucune prise de poids ni de masse grasse à l'âge adulte n'a été observée pour les générations F0 et F1 mâles et femelles, ce qui semble similaire aux données d'exposition directe ou indirecte au BPA ou BPS (Chitra *et al.*, 2003; Kabuto *et al.*, 2004; Neigishi *et al.*, 2004; Nikaido *et al.*, 2004; Shi *et al.*, 2017; Meng *et al.*, 2018; Shi *et al.*, 2018; Tucker *et al.*, 2018; Zhang *et al.*, 2018a; Dai *et al.*, 2021; Jeminiwana *et al.*, 2021; Kaimal *et al.*, 2021; Darghouti *et al.*, 2022) ou bien même au TCS (Kumar *et al.*, 2009; Zorilla *et al.*, 2009; Cao *et al.*, 2018; Huang *et al.*, 2020; Ma *et al.*, 2020; Hao *et al.*, 2022b; Weber *et al.*, 2022). Cependant, aucune de ces études n'observe une modification de la consommation alimentaire. De même, une augmentation du poids des rats est bien retrouvée au moment du sevrage, ce qui est consistant avec les données de la littérature après expositions indirectes de rats au BPA ou BPS. Cependant, nous ne retrouvons pas un développement du tissu adipeux chez ces rats avec l'effet cocktail (Akingbemi *et al.*, 2004; Somm *et al.*, 2009; Ahsan *et al.*, 2018; Meng *et al.*, 2018; Meng *et al.*, 2019; Boudalia *et al.*, 2021). Au niveau du foie, les effets de stéatoses du BPA, BPS ou TCS ne sont ici pas retrouvés avec le mélange de PE. Il est cependant difficile de définir, si le cocktail de PE en est la raison ou si ce sont plutôt les doses qui ne nous permettent pas d'observer cette atteinte hépatique. En effet, les publications rapportant une stéatose utilisent des doses bien plus fortes que celles utilisées dans notre cocktail (Foulds *et al.*, 2017; Treviño *et al.*, 2017; Zhang *et al.*, 2018a; Meng *et al.*, 2019; Huang *et al.*, 2020). De

manière générale, l'effet cocktail de PE semble entraîner des effets similaires à ceux observés dans la littérature. Il est cependant important de noter que certains effets n'ont été que très peu étudiés voire sont novateurs. C'est le cas de l'observation de symptômes indiquant un début d'insulino-résistance, une augmentation du poids des muscles ainsi que des impacts fonctionnels et structurels sur la mitochondrie hépatique. Pour ces derniers, il est donc difficile de savoir si ces conséquences sont liées ou non à l'effet cocktail.

Au niveau neuroendocrinien, l'effet cocktail a entraîné un effet inverse sur les surrénales (diminution du poids) par rapport à ce qui est décrit dans la littérature, c'est à dire une augmentation du poids des surrénales notamment après exposition de rongeurs au BPA (Poimenova *et al.*, 2010; Panagiotidou *et al.*, 2014; Zhou *et al.*, 2015; Medwid *et al.*, 2016; Gbadebo Olukole *et al.*, 2019). Il est cependant difficile de savoir si cet effet pourrait être lié à une exposition au TCS ou au MP, dû au manque d'études sur ce sujet, ou s'il est la résultante d'un impact du mélange des 3 PE. A l'inverse, le peu de résultats retrouvés sur les hormones thyroïdiennes semblent aller dans le sens des études sur modèle rongeur exposés aux bisphénols et TCS (Crofton *et al.*, 2007; Zorilla *et al.*, 2009; Axelstad *et al.*, 2013; Zhang *et al.*, 2018b; Fernandez *et al.*, 2018; Taha *et al.*, 2020; Marques *et al.*, 2022). De la même manière, une augmentation de l'activité motrice pour la génération F0 est retrouvée aussi bien avec notre cocktail que lors d'exposition au BPA (Anderson *et al.*, 2013; Komada *et al.*, 2014). Enfin, des modifications structurelles du cerveau ont été retrouvées et n'ont, à notre connaissance, jamais été décrites. Il est donc difficile de savoir si ces impacts sont liés ou non à l'effet cocktail de PE.

Enfin, au niveau de la reproduction, un effet moins important sur la fertilité féminine semble être observé par rapport aux observations faites suite à l'exposition de femelles au BPA, BPS (Honma *et al.*, 2002; Nikaido *et al.*, 2004; Ryan *et al.*, 2006) ou TCS (Kumar *et al.*, 2009; Zorilla *et al.*, 2009; Feng *et al.*, 2016; Cao *et al.*, 2018; Pryianka *et al.*, 2020). Ce moindre impact ne semble pas lié au cocktail mais plutôt aux doses d'expositions nettement plus faibles dans notre étude et il en est de même pour nos résultats sur la fertilité masculine (Al-Hiyasat *et al.*, 2002; Shi *et al.*, 2017

et 2018; Dai *et al.*, 2021; Ullah *et al.*, 2021; Wu *et al.*, 2021; Darghouthi *et al.*, 2022). L'impact des PE sur la reproduction ne semble pas être modifié par l'effet cocktail.

De manière général, l'impact du cocktail ne semble pas entraîner des effets différents ou plus importants que ceux rapportés par les études n'étudiant qu'un seul des PE de notre mélange. Seule une modification du comportement alimentaire semble être lié au cocktail. L'hypothèse d'un effet du cocktail sur les surrénales est également possible au vu de l'effet inverse observé par rapport aux données de la littérature.

La question du cocktail est une question nouvelle en toxicologie. Celle-ci a notamment été posée au vu du nombre important de molécules chimiques dans notre environnement. Elle présuppose que des molécules, retrouvées en petite quantité et pouvant avoir le même effet, peuvent entraîner des effets plus conséquents en mélange (Vandenberg *et al.*, 2012). Cette question est d'autant plus intéressante qu'elle nécessite de prendre en compte l'aspect pharmacologique des molécules, c'est à dire une définition de la cible, une analyse pharmacochimique de la liaison, une définition du type de ligand (agoniste, antagoniste, ...), la description de la toxicocinétique de la molécule, *etc ...* (Nohynek *et al.*, 2013). L'ensemble de ces éléments est nécessaire pour pouvoir potentiellement prédire les effets des nombreux mélanges pouvant être retrouvés, comme exposé dans la partie "Introduction" de ce manuscrit (McCallum *et al.*, 2014; Smith, 2016; Lappas & Lappas, 2022). Or, pour les PE il est extrêmement difficile de trouver l'ensemble de ces informations, notamment au niveau de la description des récepteurs et du potentiel d'action aussi bien pour le BPA, interdit en France, que pour le BPS, le TCS ou le MP. En effet, peu d'études cristallographiques ont été effectuées sur l'ensemble de ces molécules et le peu d'informations mécanistiques ne permet pas aujourd'hui d'expliquer à lui seul les effets retrouvés à très fortes doses (Nohynek *et al.*, 2013; Autrup *et al.*, 2020). Par exemple, pour le BPA, qui est un des PE les plus étudiés, il a été retrouvé que celui-ci se liait 1 000 fois moins aux récepteurs œstrogéniques β que l'estradiol et 2 000 fois moins que le DES, dont les conséquences délétères sur la santé ne sont plus à démontrer (Kuiper *et al.*, 1998). Cependant, son effet après liaison à ce récepteur est encore trop peu étudié. Or, comprendre les mécanismes pharmacologiques de ces molécules est

aujourd'hui plus que nécessaire pour déterminer les cocktails potentiellement nocifs pour la santé, aussi bien pour l'Homme que pour la faune sauvage.

13.2.3 Problématique de l'impact direct, multi et transgénérationnel

Le but de notre étude était également de mesurer si les impacts observés sur la génération directement exposée pouvaient être retrouvés sur les différentes générations suivantes, mais également si les PE pouvaient impacter la santé des descendants spécifiquement. Plusieurs *patterns* d'effets sont observés sur les générations.

Le premier est un effet direct ou indirect (*in utero* ou via l'allaitement) de l'exposition, c'est à dire que seule la F0 et la F1 sont impactées. Au niveau du métabolisme, un effet dépendant de l'exposition est retrouvé sur le comportement alimentaire des F0 et F1, modification qui n'est pas retrouvée pour les générations F2 et F3. De même, les impacts sur l'insulino-résistance sont retrouvés de façon marquée pour la F0 HD et commencent à apparaître pour la F1 HD âgé de 19 semaines. Au niveau du transcriptome hépatique, ce *pattern* est également retrouvé pour les différents groupes. Pour la LD, on observe une majorité de gènes différentiellement transcrits en F0 et F1 codant pour le fonctionnement cellulaire (BTG2, CDKN1A, USP18) mais également pour le transport des acides gras (APOF, NR0B2). Pour le groupe HD, ce sont plutôt des gènes codant pour des protéines du métabolisme énergétique (GSTP3, HMGCR, NR4A1, SDS). Ces dernières modifications pourraient être liées à l'apparition de l'insulino-résistance pour la F0 et F1 HD. Il est également important de noter qu'aucun des gènes différentiellement transcrits en F0 et F1 n'est retrouvé en commun pour les 2 groupes d'expositions. Au niveau du comportement, l'hyperactivité observée pour les mâles F0 n'est pas retrouvée sur les générations suivantes ; l'effet tend même à être inversé pour la génération F1 âgé de 3 semaines. Au niveau du système reproducteur, les difficultés liées à la reproduction observées chez la génération F0 ne sont plus observées chez les générations suivantes. L'ensemble de ces troubles ne semblent pas liés, cependant il est important de noter que des hypothèses similaires ont été envisagées pour au moins 2 de ces modifications physiologiques que sont les modifications du comportement alimentaire et les impacts sur la reproduction féminine : une modification de la sécrétion de prolactine. Cette hormone est en effet associée à des modifications de la satiété (Gerardo-Gettens *et*

al., 1989; Heil, 1999; Naef *et al.*, 2007; Georgescu *et al.*, 2020), mais également à des troubles de la reproduction spécifiquement chez le rongeur (Freeman *et al.*, 2000; Maeda *et al.*, 2000). De plus, la prolactine semble jouer un rôle important dans le métabolisme énergétique, notamment sur le développement des cellules β du pancréas, comme le montre les études recensées par Bernard *et al.* (2019). Il serait donc intéressant de doser, notamment sur la génération F0, la prolactine circulante afin de définir si l'exposition aux PE induit une modification de la sécrétion de prolactine chez le rat.

Un deuxième *pattern* est observé qui est celui d'un impact uniquement multi et transgénérationnel, c'est à dire qu'il n'apparaît que sur la F1, F2 et F3. Cet impact est retrouvé notamment au niveau de la prise de poids des rats pendant la période de croissance de 4 à 12 semaines uniquement pour les générations F2 et F3. Il en est de même au moment du sevrage, où le poids des générations F1, F3 et F4 est significativement augmenté notamment pour le groupe HD. Encore une fois, il est possible d'observer ce même *pattern* au niveau du transcriptome hépatique où des gènes différentiellement transcrits sont retrouvés pour les générations F1 et F3 uniquement. Pour le groupe LD, les gènes différentiellement transcrits codent principalement pour des protéines du métabolisme lipidique (CYP7A1, HSD17B2) et de la prolifération cellulaire (EGR1, IGFBP2). De même, pour le groupe HD, les gènes différentiellement transcrits codent pour des protéines jouant un rôle dans l'immunité (C7, RT1-BB), la croissance cellulaire (CD63, SOCS2) et le métabolisme lipidique (ALDH1B1, CIDEA). L'ensemble de ces résultats semblent montrer un impact multi et transgénérationnel sur le métabolisme lipidique. Il serait intéressant, au vu des résultats du transcriptome hépatique, de vérifier avec une nouvelle expérimentation si cette augmentation du poids, aussi bien au sevrage qu'au cours de la croissance, pourrait être liée à des troubles du métabolisme lipidique en effectuant des suivis sériques sur différents paramètres lipidiques telle que les TAG, le cholestérol ainsi que la leptine.

Un troisième *pattern* est celui d'un impact sur toutes les générations, c'est à dire de la F0 à la F3. Au niveau métabolique, une augmentation du poids des muscles,

qui semble être liée à une teneur en protéine différente, est retrouvée jusqu'à la génération F3 pour le groupe LD. Une analyse plus poussée, notamment une caractérisation des fibres musculaires est nécessaire pour mieux comprendre ces modifications. De plus, une analyse des gènes liés à la régulation de la myogenèse, tels que MYF5 (pour "*myogenic factor 5*"), MYOG (pour "*myogenin*"), MYOD (pour "*myoblast determination protein 1*") et MYF6 (pour "*myogenic factor 6*"), et au développement des myotubes, tels que JUNB (pour "*transcription factor jun-B*"), MYD88 (pour "*myeloid differentiation primary response 88*") et HMGB1 (pour "*high-mobility group box 1*"), pourrait nous permettre de mieux comprendre l'origine épigénétique de ces modifications.

Au niveau mitochondrial, des modifications fonctionnelles et/ou structurelles de la chaîne respiratoire mitochondriale semblent être retrouvées transgénérationnellement sans atteinte des paramètres du stress oxydant. Une analyse de l'activité des différents complexes et transporteurs de la chaîne respiratoire ainsi que du profil lipidique de la membrane mitochondriale semble nécessaire pour mieux comprendre l'origine de ces modifications. Celles-ci pourraient être liées aux modifications transcriptomiques du métabolisme lipidique présentées précédemment pour les générations F1 et F3.

Au niveau du transcriptome hépatique, de nombreux gènes communs aux 2 doses ont été retrouvés différentiellement transcrits de la génération F0 à F3. Pour le groupe LD, une grande partie des gènes différentiellement transcrits sont liés à la régulation et la transcription de gènes (ESR1, HSP90AA1, PRLR, UBD) tout comme pour le groupe HD (HSP90AA1, PRLR, UBD). Egalement, de nombreux gènes codant pour des protéines jouant un rôle dans l'immunité (CSM1, NAMPT) et le stress oxydant (GSTA2, HEBP2, NQO1) sont retrouvés différentiellement transcrits pour le groupe HD. Il est intéressant de noter que les gènes HSP90AA1, PRLR et UBD sont tous retrouvés différentiellement transcrits pour les 2 groupes d'exposition. Il serait donc intéressant de visualiser si des modifications épigénétiques dues aux PE ont eu lieu autour de ces gènes. Egalement, il serait intéressant de faire une analyse protéomique afin de voir si les modifications de transcription de ces gènes sont régulées par les mécanismes de traduction des gènes.

Enfin, une atrophie des surrénales de la génération F0 à F3 est observée sans atteinte sur le comportement anxieux, notamment pour le groupe HD. Une analyse plus fine du tissu surrénalien est nécessaire, notamment par coupes histologiques dans un premier temps, afin de mieux comprendre l'origine de l'atrophie observée. Dans l'ensemble, ces résultats sur les différentes générations nécessitent plus d'investigations afin de mieux comprendre les facteurs responsables des troubles observés.

Pour finir, un dernier *pattern* est observé : il s'agit de l'impact direct et transgénérationnel, c'est à dire que l'effet est retrouvé en F0 et F3 uniquement et semble ne pas être observé chez la génération F1 indirectement exposée. Un tel impact n'a été retrouvé que sur les modifications des volumes des différentes aires cérébrales. Cependant, aucune aire cérébrale commune entre la F0 et la F3 n'a été retrouvée modifiée. Les investigations en cours notamment sur la connectivité et le stress oxydant permettront de mieux comprendre l'origine des différentes modifications structurales des aires cérébrales.

Au niveau du foie, aucune modification physiologique n'a été observée. Cependant, des modifications du transcriptome hépatique suivant ce *pattern* de saut du multigénérationnel ont été mesurées. Pour le groupe LD, de nombreux gènes différenciellement transcrits codent pour des protéines qui jouent un rôle dans le métabolisme énergétique (LPL, PAQR9, SERPINH1), la croissance cellulaire (IGFBP1, MCM10) et du stress cellulaire (ICAM1, NQO1). Pour le groupe HD, les gènes différenciellement transcrits codent majoritairement des protéines jouant un rôle dans le métabolisme lipidique (AADAT, LPL, NR0B2, SREBF1). Il est de nouveau retrouvé une modification du métabolisme énergétique voir lipidique comme observé précédemment. De plus, le gène LPL est commun au 2 groupes d'exposition et une analyse des modifications épigénétiques autour de ce gène serait intéressante pour mieux comprendre les modifications de transcriptions observées sur les générations F0 et F3.

De manière générale, les impacts les plus importants sur la santé semblent plutôt en lien avec l'exposition directe ou indirecte (apparaissent en F0 voir F1), cependant

plusieurs effets sans conséquence notable sur la santé sont retrouvés sur les générations suivantes. Ces effets multi et transgénérationnels posent questions quant à l'impact de nouveaux facteurs de stress environnementaux, tel que l'ajout d'un régime gras. Certaines études ont observé un impact accru des PE sur le métabolisme en combinant l'exposition aux PE et la prise d'une nourriture dite "high fat" (Heindel *et al.*, 2017 ; Nadal *et al.*, 2017). Il serait intéressant de refaire un modèle transgénérationnel ou seuls les descendants seraient exposés à un régime gras afin de voir si les modifications multi et transgénérationnelles observées entraînent des effets conséquents sur la santé. Egalement, la question des mécanismes de ces modifications reste à être explorés. Afin de mieux comprendre les impacts observés sur plusieurs générations, une analyse du méthylome de différents tissus est nécessaire. Cette analyse est en cours au niveau du tissu hépatique et placentaire. En parallèle, une étude de l'acétylation, la butyrylation et la crotonylation des lysines 5 et 8 de l'histone H₄ a été effectuée sur des hépatocytes provenant de notre expérimentation *in vivo* et reproduit *in vitro* sur cellules HepG2. Cette étude fait l'objet de la thèse de Nour Zeaiter, encadrée par Uwe Schlattner au LBFA (Grenoble, France), et qui sera soutenue prochainement. L'ensemble de ces résultats permettront de mieux comprendre les modifications épigénétiques dû à notre cocktail de PE à dose environnementale.

Chapitre 14

Perspectives de la thèse

14.1 Métabolisme énergétique

Plusieurs résultats retrouvés sur le métabolisme restent actuellement inexpliqués. C'est le cas notamment de l'augmentation de la masse musculaire relative pour le groupe LD de la génération F0 à F3. Les pistes d'une prise de masse à la suite d'une accumulation de glycogène ou de triglycérides et d'une augmentation du développement musculaire d'origine hormonale ont été éliminées suite aux dosages de ces paramètres. La piste d'une augmentation du taux de protéine musculaire ou d'une modification des fibres musculaires a donc été posée, au vu des dosages sériques des marqueurs de la protéolyse (urée, CPK, créatinine). Cette analyse est le sujet du stage d'Aliénor Coquereau au LECA (Grenoble, France). Une étude préliminaire sera effectuée par histologie du plantaire droit des mâles F0 à F3. Le diamètre des différentes fibres sera évalué sur ces coupes histologiques afin de définir si cette hypertrophie musculaire a bien une origine similaire à ce que Jing *et al.* (2019) ont observé après exposition au BPA *in vivo* sur mouton. L'impact des PE sur le muscle est encore peu étudié dans la littérature et ces modifications restent donc actuellement inexpliquées.

Au niveau mitochondrial, une augmentation de la consommation d'O₂ par le complexe IV ainsi qu'une augmentation de la production de ROS par le complexe III et en "flux reverse" pour la F0 LD ont été observées. Ces modifications nécessitent une analyse plus poussée de la mitochondrie et notamment de l'activité du complexe III et IV ainsi que des transporteurs d'électrons sur les mitochondries isolées récupérées. De même, une modification structurelle de la membrane mitochondriale semble être mise en cause au vu du mauvais couplage et de l'augmentation de la

consommation d'O₂ à l'état basal par les mitochondries du groupe HD des générations F1 et F3. L'hypothèse d'une modification de la composition du profil lipidique de la membrane a été amenée. Cette hypothèse semble être corrélée à la forte sous-transcription des voies liées au métabolisme lipidique. Afin de visualiser si les PE ont eu une conséquence sur la composition des membranes, il semble donc nécessaire d'établir un profil lipidique des hépatocytes pour l'ensemble des mâles de la génération F0 à F3. Cette étude sera menée en partenariat avec le Docteur Martine Armand du Centre de Résonance Magnétique en Biologie et Médecine (Marseille, France) et vient s'ajouter au profil lipidique du lait maternel échantillonné au 18^{ème} jour d'allaitement sur l'ensemble des femelles F0, F1 et F3. Le profil lipidique du lait a déjà été lancé et est en cours d'analyse. Cette étude permettra notamment d'expliquer si les modifications du poids au sevrage des générations F1 à F4 sont dépendantes de la qualité du lait. Une telle modification du profil lipidique du lait maternel avait notamment été retrouvée par Altaminaro *et al.* (2015) à la suite d'une exposition au BPA sur rongeur.

14.2 Neurodéveloppement

En parallèle des images structurelles du cerveau, des images de diffusion ont été acquises grâce à la séquence IRM DTI-EPI 3D (TR/TE = 1000/22 msec, FOV = 20 × 16 × 29 mm², matrice = 96 × 76 × 140, taille voxel = 210 × 210 × 210 μm³, 24 directions de diffusion utilisant un gradient de diffusion bipolaire et des b-valeurs de 0 à 1000 sec/mm²) sur une période d'acquisition de 57 min et 36 sec. Ces images vont nous permettre de visualiser les connexions neuronales entre les différentes structures cérébrales et donc de visualiser si des différences de neurodéveloppement sont observées entre les groupes. Ces données pourront peut être permettre de comprendre les modifications du comportement alimentaire observées pour les générations F0 et F1 mais aussi les modifications de l'activité motrice pour la F0 lors des tests comportementaux. Enfin, l'étude de la connectivité neuronale permettra de comprendre plus finement si les différences structurelles observées pour la F0 et F3 adultes pourraient potentiellement être liées à des modifications des connexions neuronales. Ceci

pourra nous amener à émettre des hypothèses concernant des modifications comportementales non explorées, notamment des modifications de la mémoire et de l'intégration des informations somato-sensorielles. L'ensemble de ces analyses sont en cours grâce à l'aide du Docteur Isabelle Guillemain, d'Olivier Montigon et la plateforme IRMaGe au laboratoire du GIN (Grenoble, France).

En plus de l'analyse des connexions neuronales, une analyse du stress oxydant des hémisphères droits des rats (F0, F1, F3 âgés de 3 ou 19 semaines) collectés lors des dissections est en cours d'évaluation. Cette étude est composée d'un dosage des thiols, du glutathion (GSH), de la GPx, des FRAP et des TBARS. Ces résultats permettront d'apporter des informations complémentaires à l'étude des impacts des PE sur le neurodéveloppement et les modifications des structures observées par IRM. L'ensemble de cette étude est possible grâce à l'aide du Docteur Isabelle Hininger-Favier et à Amel Achouri au LBFA (Grenoble, France).

L'ensemble des résultats menés sur le système neurologique n'a jamais été fait à notre connaissance et est donc novateur dans la compréhension de l'impact des PE sur le neurodéveloppement.

14.3 Système reproducteur

Une étude plus poussée sur les causes des problèmes de fertilité observés est en cours et menée par le Docteur Emeline Fontaine de l'IAB (Grenoble, France). Les épидidymes récoltés ont été sectionnés et le sperme est en cours d'analyse par comptage du nombre total de spermatozoïdes. Egalement, une analyse des anomalies morphologiques de la queue et de la tête est en cours d'évaluation. Pour compléter cette analyse, un marquage des coupes histologiques au PNA (pour "*peanut agglutinin*") et au DAPI (4',6-diamidino-2-phénylindole) est en cours d'analyse comme décrit par Fontaine *et al.* (2022). Le PNA permet un immunomarquage de la lectine, une protéine de l'acrosome qui est une partie de la tête du spermatozoïde entourant le noyau et comprenant des enzymes protéolytiques qui ont pour rôle la traversée des couches péri-ovocytaires. Le DAPI est un fluorochrome capable de lier les adénines et thymine de l'ADN. Le marquage de ces deux parties permet une visualisation de l'étiement de l'acrosome et donc de la formation de la tête du spermatozoïde au cours

de la spermatogenèse.

14.4 Perspectives générales

Plusieurs perspectives ont été définies autour des troubles observés sur les différents systèmes physiologiques et permettront une meilleure compréhension des atteintes de l'ensemble de ces systèmes et des atteintes multi et transgénérationnelles.

14.4.1 Microbiote intestinal et PE

Un de ces indicateurs est le microbiote qui semble être lié au métabolisme et au fonctionnement cérébrale selon les dernières études recensées par Romaní-Pérez *et al.* (2021). Les PE que sont le TCS et le MP jouent majoritairement un rôle d'antiseptique bactériostatique dans les produits du quotidien. Il semble donc nécessaire de définir si cet effet peut impacter le microbiote intestinal et donc si cet impact pourrait expliquer les différents troubles du comportement et du métabolisme observés pour les générations F0 et F1. Pour cela, les bactéries Gram+ et Gram- des intestins des femelles (*post-partum*) et mâles (âgés de 19 semaines et 3 semaines) ont été collectées le long de l'intestin grêle et séquencées. Une attention particulière sera portée à la présence ou non des souches *Prevotella sp.*, *Ruminococcus sp.* et *Bifidobacterium sp.* qui semblent jouer un rôle dans la modification de la satiété comme retrouvé dans la littérature (Anastasovska *et al.*, 2012; Frost *et al.*, 2014; Zhao *et al.*, 2019; Romaní-Pérez *et al.*, 2021). L'extraction ainsi que le séquençage des données a été possible grâce au travail de Delphine Rioux, Christian Miquel et Clément Lionnet au LECA (Grenoble, France). L'ensemble des résultats est en cours d'analyse.

14.4.2 Prolactine, métabolisme osseux et PE

Les modifications retrouvées notamment sur le comportement alimentaire, la prise de poids au sevrage et la reproduction féminine ont permis de poser l'hypothèse d'une modification de la sécrétion de prolactine. Il semble donc nécessaire de doser cette hormone grâce aux échantillons de sang collectés. Ce dosage ne sera possible que sur les mâles car aucun suivi du cycle des femelles n'a été fait et des modifications de la quantité de prolactine au cours du cycle menstruel peuvent être

observées chez les rates (Ben-Jonathan *et al.*, 2008). Le dosage est prévu prochainement sur le plasma des mâles adultes afin de définir si une modification de cette hormone pourrait être liée à une exposition aux PE. Ce dosage permettra de mieux comprendre si les troubles du comportement et de la reproduction sont liés à cette hormone (Bernard *et al.*, 2019). De plus la prolactine semble jouer un rôle plus large notamment au niveau pancréatique où elle favoriserait le développement des cellules β des îlots de Langerhans, la sensibilité à l'insuline et jouerait également un rôle dans le développement du tissu adipeux (Freeman *et al.*, 2000; Ben-Jonathan *et al.*, 2008; Bernard *et al.*, 2019; Lopez-Vicchi *et al.*, 2020; Ceré *et al.*, 2021).

Cette hormone jouerait également un rôle au niveau du métabolisme osseux mais dont le mécanisme précis est encore débattu (Bernard *et al.*, 2019). Cette dernière piste est d'autant plus intéressante qu'une pousse anormale des incisives a été observée pour la génération F3 du groupe LD chez les mâles âgés de 17 à 19 semaines. De telles manifestations peuvent être observées sur les rongeurs, mais plus souvent à un âge avancé. Cette pousse a été extrêmement rapide (1 à 2 jours) et retrouvée sur différentes portées. Afin de comprendre et d'investiguer l'impact des PE sur le métabolisme osseux, il est prévu d'effectuer une analyse des crânes et des dents récupérées lors des IRM grâce à l'aide d'une collaboration avec le Professeur Sylvie Babajko et le Professeur Frédéric Lézot de l'Université Paris Cité (France). Les impacts des PE et notamment du BPA semblent entraîner un retard de la minéralisation des os après exposition de rats *in utero* à de très fortes doses allant de 100 à 800 mg/kg/j selon Kim *et al.* (2001), effets non retrouvés par Pelch *et al.* (2012) sur des souris jeunes exposées à 10 μ g/kg/j. Cependant l'impact du BPA ou même du TCS et MP sur le métabolisme osseux reste encore peu étudié (World Health Organization, 2012; Agas *et al.*, 2013). De manière générale, l'impact des PE sur la prolactine reste peu étudié *in vivo*, et de nombreux indicateurs semblent pointer vers une perturbation de cette hormone dans le cas de notre étude.

14.4.3 Méthylome et PE

Enfin, afin de mieux comprendre les impacts multi et transgénérationnels des PE, une analyse du méthylome par technique RRBS (pour "*reduced representation bisulfite sequencing*") a été faite sur l'ADN du tissu hépatique des mâles, mais également

au niveau du placenta collecté par césarienne sur les femelles des générations F0, F1 et F3. Cette analyse a été possible grâce au Docteur Florent Chuffart de l'IAB (Grenoble, France) et la plateforme MGX (Montpellier, France). Ces données sont en cours d'analyse. Elles permettront de comprendre si les modifications transcriptionnelles observées au niveau hépatique sont liées à une modification de la méthylation des différents promoteurs des gènes retrouvés différentiellement transcrits. Une attention plus particulière sera faite autour des gènes HSP90AA1, LPL, PRLR et UBD. Du côté du placenta, l'analyse du méthylome permettra de comparer les données des rates avec le méthylome placentaire des femmes de la cohorte EDEN (Jedynak *et al.*, 2021) et donc de savoir si les modifications épigénétiques observées chez l'Homme pourraient également être retrouvées chez un modèle rongeur pour de mêmes concentrations d'exposition aux PE.

Conclusion

Cette thèse a permis d'étudier la toxicité des PE sur différents systèmes physiologiques que sont le métabolisme énergétique, le système nerveux central ainsi que la reproduction. Une étude aussi technique, abordant des thématiques aussi larges et prenant en compte autant de problématiques que sont les doses environnementales, les effets cocktails et les impacts transgénérationnels n'a, à notre connaissance, jamais été faite.

De manière générale, nous observons que l'impact des PE sur l'organisme semble dépendant de l'exposition, de l'âge mais également de la dose. Comme le montre cette thèse, nos données semblent cohérentes avec la littérature scientifique, notamment sur les questions d'effet-doses. Pourtant, l'effet-dose "non-monotone" a notamment permis de classer les PE dans une catégorie séparée des autres molécules, de par leur impact toxicologique différent. Les PE semblent cependant agir de la même manière que les autres composés chimiques synthétiques ou naturels dont la toxicité a été établie, comme le démontre notre revue exhaustive de la bibliographie et l'analyse de nos résultats. Il est donc légitime de questionner la réelle nécessité d'une toxicologie spécifique aux PE, qu'ils soient d'origine naturelle ou synthétique, ainsi que l'utilité de classer toxicologiquement les PE dans une catégorie à part des autres molécules.

Enfin, il reste important de noter que des effets multi et transgénérationnels ont été observés, sans conséquences notables sur la santé du modèle rongeur. Notre étude a été faite dans un environnement contrôlé dont le seul facteur stressant pour l'organisme est l'exposition aux polluants. Il serait donc intéressant d'ajouter des facteurs de stress environnementaux pour visualiser si ces modifications multi et transgénérationnelles pourraient être des facteurs de risque dans le développement de pathologies chroniques tel que le diabète par exemple. Cependant, la toxicité d'une substance est aujourd'hui établie par test *in vitro* et *in vivo* à l'aide de plusieurs concentrations croissantes dans un environnement contrôlé. Cet apport de stress environnemental, par l'ajout de paramètres connus pour leurs impacts conséquents

sur le développement de pathologies chroniques (tels qu'un régime gras, l'exposition à d'autres composés dont la toxicité a été prouvée, une augmentation des doses ou bien la prise d'âge), pose question quant à la "particularité" de la mesure de la toxicité des PE, ou des autres composés non-PE, qu'ils soient d'origine synthétique ou naturelle : la toxicologie doit-elle, au vu des connaissances scientifiques actuelles, prendre en compte l'impact des facteurs de stress ou de risque dans les études toxicologiques?

Annexes

Annexe 1 - Gènes hépatiques différentiellement transcrits pour les mâles F0 du groupe LD

Gène	Nom du gène	RT	P-valeur
Abca8a	ATP-binding cassette, subfamily A (ABC1), member 8a	1,35	3,50.10 ⁻⁴
Abcb1b	ATP-binding cassette, subfamily B (MDR/TAP), member 1B	0,67	1,00.10 ⁻⁴
Abhd3	abhydrolase domain containing 3, phospholipase	0,42	5,00.10 ⁻⁵
Acaa1b	acetyl-Coenzyme A acyltransferase 1B	0,64	5,00.10 ⁻⁵
Ackr3	atypical chemokine receptor 3	0,55	4,00.10 ⁻⁴
Acnat1	acyl-coenzyme A amino acid N-acyltransferase 1	0,17	5,00.10 ⁻⁵
Acnat2	acyl-coenzyme A amino acid N-acyltransferase 2	2,32	5,00.10 ⁻⁵
Acot1	acyl-CoA thioesterase 1	0,48	5,00.10 ⁻⁵
Acsf2	acyl-CoA synthetase family member 2	1,54	5,00.10 ⁻⁵
Acsl3	acyl-CoA synthetase long-chain family member 3	0,65	2,50.10 ⁻⁴
Ahr	aryl hydrocarbon receptor	0,71	1,00.10 ⁻⁴
Akr1b7	aldo-keto reductase family 1, member B7	3,43	1,00.10 ⁻⁴
Aldh1a1	aldehyde dehydrogenase 1 family, member A1	0,71	2,00.10 ⁻⁴
Apoa1	apolipoprotein A1	1,50	6,50.10 ⁻⁴
Apoc4	apolipoprotein C4	1,59	5,00.10 ⁻⁵
Apof	apolipoprotein F	2,77	5,00.10 ⁻⁵
Apol3	apolipoprotein L, 3	0,70	1,00.10 ⁻⁴
Asmtl	acetylserotonin O-methyltransferase-like	1,40	6,50.10 ⁻⁴
Atp2b2	ATPase plasma membrane Ca ²⁺ transporting 2	0,70	8,00.10 ⁻⁴
Bhlha15	basic helix-loop-helix family, member a15	0,44	5,00.10 ⁻⁵
Bmyc	brain expressed myelocytomatosis oncogene	1,79	1,50.10 ⁻⁴
Btg2	BTG anti-proliferation factor 2	0,67	5,00.10 ⁻⁵
Cadm4	cell adhesion molecule 4	1,78	5,00.10 ⁻⁴
Car1	carbonic anhydrase 1	0,50	1,00.10 ⁻⁴
Cd14	CD14 molecule	0,68	5,00.10 ⁻⁵
Cdkn1a	cyclin-dependent kinase inhibitor 1A	0,44	5,00.10 ⁻⁵
Ceacam4	CEA cell adhesion molecule 4	inf	5,00.10 ⁻⁵
Cela1	chymotrypsin like elastase 1	1,35	3,00.10 ⁻⁴
Ces2e	carboxylesterase 2E	1,52	1,50.10 ⁻⁴
Cfap126	cilia and flagella associated protein 126	1,55	1,00.10 ⁻⁴
Chrna2	cholinergic receptor nicotinic alpha 2 subunit	0,57	5,00.10 ⁻⁵

Gène	Nom du gène	RT	P-valeur
Cib2	calcium and integrin binding family member 2	0,24	5,00.10 ⁻⁵
Cpt1b	carnitine palmitoyltransferase 1B	0,62	5,00.10 ⁻⁵
Csm1d1	CUB and Sushi multiple domains 1	0,56	5,00.10 ⁻⁵
Cxcl1	C-X-C motif chemokine ligand 1	0,18	5,00.10 ⁻⁵
Cyp1a1	cytochrome P450, family 1, subfamily a, polypeptide 1	0,44	2,00.10 ⁻⁴
Cyp2d5	cytochrome P450, family 2, subfamily d, polypeptide 5	1,41	1,50.10 ⁻⁴
Cyp3a23/3a1	-	0,07	5,00.10 ⁻⁵
Cyp3a62	cytochrome P450, family 3, subfamily a, polypeptide 62	0,63	1,00.10 ⁻⁴
Cyp4a8	cytochrome P450, family 4, subfamily a, polypeptide 8	0,48	5,00.10 ⁻⁵
Duoxa1	dual oxidase maturation factor 1	3,71	5,00.10 ⁻⁵
Edem1	ER degradation enhancing alpha-mannosidase like protein 1	0,72	2,50.10 ⁻⁴
Ehhadh	enoyl-CoA hydratase and 3-hydroxyacyl CoA dehydrogenase	0,68	3,50.10 ⁻⁴
Ehmt2	euchromatic histone lysine methyltransferase 2	1,33	6,00.10 ⁻⁴
Enc1	ectodermal-neural cortex 1	0,64	1,00.10 ⁻⁴
Esr1	estrogen receptor 1	0,58	5,00.10 ⁻⁵
Fads6	fatty acid desaturase 6	1,44	5,00.10 ⁻⁵
Fam169b	family with sequence similarity 169, member B	3,80	5,00.10 ⁻⁵
Fance	FA complementation group E	1,51	2,00.10 ⁻⁴
Fdxr	ferredoxin reductase	1,41	2,50.10 ⁻⁴
Ficd	FIC domain protein adenylyltransferase	0,68	4,00.10 ⁻⁴
Fkbp8	FKBP prolyl isomerase 8	1,37	4,00.10 ⁻⁴
Foxa3	forkhead box A3	1,43	5,00.10 ⁻⁵
Gadd45b	growth arrest and DNA-damage-inducible, beta	0,43	5,00.10 ⁻⁵
Gbp5	guanylate binding protein 5	0,54	5,00.10 ⁻⁵
Gdnf	glial cell derived neurotrophic factor	4,75	5,00.10 ⁻⁵
Glyat12	glycine-N-acyltransferase-like 2	0,75	6,00.10 ⁻⁴
Gnb2	G protein subunit beta 2	1,36	4,00.10 ⁻⁴
Gpm6a	glycoprotein m6a	0,61	5,00.10 ⁻⁵
Gsta2	glutathione S-transferase alpha 2	0,44	5,00.10 ⁻⁵
Hcn2	hyperpolarization activated cyclic nucleotide gated K Na channel 2	2,77	5,00.10 ⁻⁵
Hebp2	heme binding protein 2	0,27	5,00.10 ⁻⁵
Hist1h2bh	-	0,72	1,00.10 ⁻⁴
Hmgcs1	3-hydroxy-3-methylglutaryl-CoA synthase 1	0,56	5,00.10 ⁻⁵
Hnrnpc	heterogeneous nuclear ribonucleoprotein C	0,59	3,50.10 ⁻⁴
Hps1	HPS1, biogenesis of lysosomal organelles complex 3 subunit 1	1,48	7,50.10 ⁻⁴
Hsp90aa1	heat shock protein 90 alpha family class A member 1	0,21	5,00.10 ⁻⁵
Hyi	hydroxypyruvate isomerase	1,40	7,50.10 ⁻⁴
Icam1	intercellular adhesion molecule 1	0,72	4,50.10 ⁻⁴

Gène	Nom du gène	RT	P-valeur
Igfbp1	insulin-like growth factor binding protein 1	0,37	5,00.10 ⁻⁵
Inmt	indolethylamine N-methyltransferase	1,54	5,00.10 ⁻⁵
Insig1	insulin induced gene 1	0,66	5,00.10 ⁻⁵
Irf7	interferon regulatory factor 7	0,66	5,00.10 ⁻⁵
Irs2	insulin receptor substrate 2	0,63	5,00.10 ⁻⁵
Junb	JunB proto-oncogene, AP-1 transcription factor subunit	0,49	5,00.10 ⁻⁵
Khk	ketoheksokinase	1,36	5,00.10 ⁻⁴
Krt10	keratin 10	2,09	2,00.10 ⁻⁴
LOC100125598	metallothionein 1a pseudogene	1,76	5,00.10 ⁻⁵
LOC100134871	beta globin minor gene	1,44	6,50.10 ⁻⁴
LOC100910877	cytochrome P450 3A1-like	0,52	2,50.10 ⁻⁴
LOC100911558	serine protease inhibitor Kazal-type 3-like	0,03	5,00.10 ⁻⁵
LOC103689992	-	0,05	5,00.10 ⁻⁵
LOC103690108	class I histocompatibility antigen, Non-RT1.A alpha-1 chain-like	4,01	5,00.10 ⁻⁵
LOC103692273	zinc finger protein 431-like	0,54	1,00.10 ⁻⁴
LOC108348077	major urinary protein-like	0,53	5,00.10 ⁻⁵
LOC108353237	class I histocompatibility antigen, Non-RT1.A alpha-1 chain-like	2,53	1,00.10 ⁻⁴
LOC298111	alpha2u globulin	1,58	5,00.10 ⁻⁵
LOC305639	similar to heat shock protein 8	0,35	5,50.10 ⁻⁴
LOC688489	similar to alpha2u globulin	2,61	5,00.10 ⁻⁵
LOC691153	-	3,20	5,00.10 ⁻⁵
Lpl	lipoprotein lipase	0,55	5,00.10 ⁻⁵
Marco	macrophage receptor with collagenous structure	0,46	5,00.10 ⁻⁵
Marveld1	MARVEL domain containing 1	0,73	5,50.10 ⁻⁴
Mcm10	minichromosome maintenance 10 replication initiation factor	2,35	5,00.10 ⁻⁵
Mdc1	mediator of DNA damage checkpoint 1	1,68	6,50.10 ⁻⁴
Mgmt	O-6-methylguanine-DNA methyltransferase	0,70	2,00.10 ⁻⁴
Mk1	Mk1 protein	0,72	5,00.10 ⁻⁵
Mmd2	monocyte to macrophage differentiation-associated 2	3,19	5,00.10 ⁻⁵
Mocos	molybdenum cofactor sulfurase	0,56	5,00.10 ⁻⁵
Mpnd	MPN domain containing	1,34	7,50.10 ⁻⁴
Mrpl1	mitochondrial ribosomal protein L1	0,28	2,50.10 ⁻⁴
Msrb1	methionine sulfoxide reductase B1	2,19	5,00.10 ⁻⁵
Mt1	metallothionein 1	1,74	5,00.10 ⁻⁵
Mt2A	metallothionein 2A	1,46	5,00.10 ⁻⁵
Mx2	MX dynamin like GTPase 2	0,64	2,50.10 ⁻⁴
Mybl1	MYB proto-oncogene like 1	0,46	5,00.10 ⁻⁵
Nampt	nicotinamide phosphoribosyltransferase	0,70	5,00.10 ⁻⁵

Gène	Nom du gène	RT	P-valeur
Nceh1	neutral cholesterol ester hydrolase 1	0,68	1,50.10 ⁻⁴
Neu1	neuraminidase 1	1,47	5,00.10 ⁻⁵
Nfkbiz	NFKB inhibitor zeta	0,70	5,50.10 ⁻⁴
Nim1k	NIM1 serine/threonine protein kinase	0,57	5,00.10 ⁻⁵
Nqo1	NAD(P)H quinone dehydrogenase 1	2,27	5,00.10 ⁻⁵
Nr0b2	nuclear receptor subfamily 0, group B, member 2	2,01	5,00.10 ⁻⁵
Nudt11	nudix hydrolase 11	0,04	5,00.10 ⁻⁵
Nup210	nucleoporin 210	0,68	4,00.10 ⁻⁴
Paqr9	progesterin and adipoQ receptor family member 9	0,73	4,50.10 ⁻⁴
Pcp4l1	Purkinje cell protein 4-like 1	0,44	1,00.10 ⁻⁴
Pex11a	peroxisomal biogenesis factor 11 alpha	0,64	5,00.10 ⁻⁵
Pfkfb1	6-phosphofructo-2-kinase/fructose-2,6-biphosphatase 1	0,64	1,00.10 ⁻⁴
Plce1	phospholipase C, epsilon 1	0,67	2,00.10 ⁻⁴
Plxnb1	plexin B1	1,61	5,00.10 ⁻⁵
Ppp1r14a	protein phosphatase 1, regulatory (inhibitor) subunit 14A	1,54	1,00.10 ⁻⁴
Ppp1r3g	protein phosphatase 1, regulatory subunit 3G	0,18	5,00.10 ⁻⁵
Prlr	prolactin receptor	2,18	5,00.10 ⁻⁵
Ptms	parathyrosin	1,60	5,00.10 ⁻⁵
Rasgef1b	RasGEF domain family, member 1B	0,64	5,00.10 ⁻⁵
Rcan2	regulator of calcineurin 2	1,54	5,00.10 ⁻⁵
RGD1305733	-	0,24	5,00.10 ⁻⁵
RGD1559960	similar to Sulfotransferase K1 (rSULT1C2)	1,41	8,00.10 ⁻⁴
RGD1561849	-	0,53	5,00.10 ⁻⁵
RGD1562652	similar I histocompatibility antigen α chain - cotton-top tamarin	2,94	5,00.10 ⁻⁵
RGD1566085	similar to pyridoxal (pyridoxine, vitamin B6) kinase	0,62	5,00.10 ⁻⁵
Rgs16	regulator of G-protein signaling 16	0,22	5,00.10 ⁻⁵
Rhob	ras homolog family member B	0,58	5,00.10 ⁻⁵
Rhou	ras homolog family member U	0,70	5,00.10 ⁻⁵
Rnf186	ring finger protein 186	2,17	5,00.10 ⁻⁵
RT1-A1	RT1 class Ia, locus A1	3,03	5,00.10 ⁻⁵
RT1-A2	RT1 class Ia, locus A2	1,56	5,00.10 ⁻⁵
RT1-Bb	RT1 class II, locus Bb	1,64	5,00.10 ⁻⁵
RT1-CE10	RT1 class I, locus CE10	1,67	5,00.10 ⁻⁵
RT1-CE2	RT1 class I, locus CE2	1,83	5,00.10 ⁻⁵
RT1-CE7	RT1 class I, locus CE7	2,99	5,00.10 ⁻⁵
RT1-P2-ps1	RT1 class I, locus P2, pseudogene 1	0,14	5,00.10 ⁻⁵
Rtel1	regulator of telomere elongation helicase 1	1,71	5,00.10 ⁻⁵
Rtn4	reticulon 4	0,67	5,00.10 ⁻⁵

Gène	Nom du gène	RT	P-valeur
Rtp4	receptor (chemosensory) transporter protein 4	0,74	7,50.10 ⁻⁴
Sccpdh	saccharopine dehydrogenase (putative)	11,96	4,00.10 ⁻⁴
Scd	stearoyl-CoA desaturase	1,51	5,00.10 ⁻⁵
Sds	serine dehydratase	1,74	5,00.10 ⁻⁵
Serpina6	serpin family A member 6	1,39	7,50.10 ⁻⁴
Serpinh1	serpin family H member 1	0,61	5,00.10 ⁻⁵
Sgk1	serum/glucocorticoid regulated kinase 1	1,94	5,00.10 ⁻⁵
Shf	Src homology 2 domain containing F	1,50	5,00.10 ⁻⁵
Slc16a11	solute carrier family 16, member 11	1,94	5,00.10 ⁻⁵
Slc22a17	solute carrier family 22, member 17	1,41	5,50.10 ⁻⁴
Slc26a8	solute carrier family 26 member 8	0,69	5,00.10 ⁻⁵
Slc39a13	solute carrier family 39 member 13	1,70	1,00.10 ⁻⁴
Slc41a3	solute carrier family 41, member 3	1,92	5,00.10 ⁻⁴
Slc43a1	solute carrier family 43 member 1	1,42	5,00.10 ⁻⁵
Slc6a6	solute carrier family 6 member 6	0,50	5,00.10 ⁻⁵
Sox12	SRY-box transcription factor 12	2,33	6,00.10 ⁻⁴
Spsb4	sp1A/ryanodine receptor domain and SOCS box containing 4	2,15	3,50.10 ⁻⁴
Stat3	signal transducer and activator of transcription 3	0,67	5,00.10 ⁻⁵
Tceb2	-	1,41	5,00.10 ⁻⁵
Tex36	testis expressed 36	0,52	1,00.10 ⁻⁴
Tmem56	-	0,71	1,50.10 ⁻⁴
Tp53inp1	tumor protein p53 inducible nuclear protein 1	0,58	5,00.10 ⁻⁵
Tysnd1	trypsin like peroxisomal matrix peptidase 1	1,48	5,00.10 ⁻⁵
Uap111	UDP-N-acetylglucosamine pyrophosphorylase 1 like 1	1,44	6,00.10 ⁻⁴
Ubd	ubiquitin D	28,50	5,00.10 ⁻⁵
Ugt2a3	UDP glucuronosyltransferase family 2 member A3	0,62	5,00.10 ⁻⁵
Upp2	uridine phosphorylase 2	0,64	1,00.10 ⁻⁴
Usp18	ubiquitin specific peptidase 18	0,66	1,00.10 ⁻⁴
Vnn1	vanin 1	0,72	3,50.10 ⁻⁴
Vsig10	V-set and immunoglobulin domain containing 10	0,49	5,00.10 ⁻⁵
XAF1	XIAP associated factor 1	0,57	5,00.10 ⁻⁵
Zbtb16	zinc finger and BTB domain containing 16	0,45	5,00.10 ⁻⁵
Zfp189	zinc finger protein 189	1,46	2,00.10 ⁻⁴
Zfp36	zinc finger protein 36	0,74	7,50.10 ⁻⁴
Zfp771	zinc finger protein 771	1,51	5,00.10 ⁻⁵

Annexe 2 - Gènes hépatiques différentiellement transcrits pour les mâles F0 du groupe HD

Gène	Nom du gène	RT	P-valeur
A1cf	APOBEC1 complementation factor	0,69	1,00.10 ⁻⁴
A2ml1	alpha-2-macroglobulin-like 1	0,63	1,50.10 ⁻³
Aadat	aminoadipate aminotransferase	0,69	5,00.10 ⁻⁵
Abca6	ATP binding cassette subfamily A member 6	0,75	1,95.10 ⁻³
Abcb1b	ATP-binding cassette, subfamily B (MDR/TAP), member 1B	0,36	5,00.10 ⁻⁵
Abcc6	ATP binding cassette subfamily C member 6	1,36	9,00.10 ⁻⁴
Abcc9	ATP binding cassette subfamily C member 9	0,70	2,05.10 ⁻³
Abcg5	ATP binding cassette subfamily G member 5	1,51	5,00.10 ⁻⁵
Abhd3	abhydrolase domain containing 3, phospholipase	0,19	5,00.10 ⁻⁵
Acaa1b	acetyl-Coenzyme A acyltransferase 1B	0,61	5,00.10 ⁻⁵
Acacb	acetyl-CoA carboxylase beta	1,49	5,00.10 ⁻⁵
Ackr3	atypical chemokine receptor 3	0,52	3,00.10 ⁻⁴
Acnat1	acyl-coenzyme A amino acid N-acyltransferase 1	0,59	5,00.10 ⁻⁵
Acnat2	acyl-coenzyme A amino acid N-acyltransferase 2	1,53	1,00.10 ⁻⁴
Acot2	acyl-CoA thioesterase 2	0,72	6,00.10 ⁻⁴
Acox1	acyl-CoA oxidase 1	0,70	3,50.10 ⁻⁴
Acs13	acyl-CoA synthetase long-chain family member 3	0,64	6,00.10 ⁻⁴
Acs14	acyl-CoA synthetase long-chain family member 4	0,71	5,50.10 ⁻⁴
Acsm2a	-	0,48	5,00.10 ⁻⁵
Acss3	acyl-CoA synthetase short-chain family member 3	0,69	5,00.10 ⁻⁵
Acy3	aminoacylase 3	1,69	5,00.10 ⁻⁵
Adamts7	ADAM metalloproteinase with thrombospondin type 1 motif, 7	1,53	5,00.10 ⁻⁵
Adcy10	adenylate cyclase 10	0,62	1,15.10 ⁻³
Adh7	alcohol dehydrogenase 7 (class IV), mu or sigma polypeptide	0,60	5,00.10 ⁻⁵
Adora1	adenosine A1 receptor	0,64	1,75.10 ⁻³
Aig1	androgen-induced 1	0,69	4,00.10 ⁻⁴
Akap8l	A-kinase anchoring protein 8 like	1,40	5,00.10 ⁻⁴
Akr1c1	aldo-keto reductase family 1, member C1	0,66	5,00.10 ⁻⁵
Aldh1a1	aldehyde dehydrogenase 1 family, member A1	0,70	4,50.10 ⁻⁴
Alkbh2	alkB homolog 2, alpha-ketoglutarate-dependent dioxygenase	1,53	1,00.10 ⁻⁴
Als2	alsin Rho guanine nucleotide exchange factor ALS2	0,76	2,00.10 ⁻³

Gène	Nom du gène	RT	P-valeur
Amdhd2	amidohydrolase domain containing 2	1,51	3,50.10 ⁻⁴
Ammecr11	AMMECR1 like	0,75	1,75.10 ⁻³
Angptl4	angiopoietin-like 4	0,66	5,00.10 ⁻⁵
Ap1g1	adaptor related protein complex 1 subunit gamma 1	0,71	2,00.10 ⁻⁴
Apba3	amyloid beta precursor protein binding family A member 3	1,42	4,00.10 ⁻⁴
Apoc2	apolipoprotein C2	1,49	1,50.10 ⁻⁴
Apoc4	apolipoprotein C4	1,79	5,00.10 ⁻⁵
Apof	apolipoprotein F	2,98	5,00.10 ⁻⁵
Apol11a	apolipoprotein L 11a	0,56	1,50.10 ⁻⁴
Arfip2	ADP-ribosylation factor interacting protein 2	1,37	1,95.10 ⁻³
Arhgap29	Rho GTPase activating protein 29	0,73	8,00.10 ⁻⁴
Arhgap5	Rho GTPase activating protein 5	0,72	5,00.10 ⁻⁴
Arhgef19	Rho guanine nucleotide exchange factor 19	1,37	1,25.10 ⁻³
Arhgef3	Rho guanine nucleotide exchange factor 3	0,63	7,50.10 ⁻⁴
Arl5b	ADP-ribosylation factor like GTPase 5B	0,76	1,95.10 ⁻³
Asmtl	acetylserotonin O-methyltransferase-like	1,38	1,85.10 ⁻³
Aspdh	aspartate dehydrogenase domain containing	1,33	1,70.10 ⁻³
Aspg	asparaginase	1,44	1,00.10 ⁻⁴
Atic	inosine monophosphate synthase	0,70	1,20.10 ⁻³
Atl3	atlastin GTPase 3	0,69	5,00.10 ⁻⁵
Atp2a2	ATPase sarcoplasmic/endoplasmic reticulum Ca ²⁺ transporting 2	0,72	6,50.10 ⁻⁴
Atp2b2	ATPase plasma membrane Ca ²⁺ transporting 2	0,55	5,00.10 ⁻⁵
Atp2c1	ATPase secretory pathway Ca ²⁺ transporting 1	0,75	1,60.10 ⁻³
Atrn	attractin	0,73	1,20.10 ⁻³
Atxn1	ataxin 1	0,57	2,50.10 ⁻⁴
Azin1	antizyme inhibitor 1	0,69	5,00.10 ⁻⁵
B3galt1	Beta-1,3-galactosyltransferase 1	0,67	5,00.10 ⁻⁵
Banp	Btg3 associated nuclear protein	0,56	6,00.10 ⁻⁴
Bcl6	BCL6, transcription repressor	1,79	5,00.10 ⁻⁵
Bgn	biglycan	0,74	8,50.10 ⁻⁴
Bicdl1	BICD family like cargo adaptor 1	1,82	1,00.10 ⁻⁴
Birc2	baculoviral IAP repeat-containing 2	0,70	3,00.10 ⁻⁴
Bloc1s1	biogenesis of lysosomal organelles complex-1, subunit 1	1,49	1,00.10 ⁻⁴
C1galt1	core 1 β 1,3-galactosyltransferase 1	0,74	7,00.10 ⁻⁴
C1qtnf3	C1q and TNF related 3	2,35	5,00.10 ⁻⁵
C5-2	-	0,61	5,00.10 ⁻⁵
C7	complement C7	0,63	2,00.10 ⁻⁴
Cabp1	calcium binding protein 1	1,46	7,00.10 ⁻⁴

Gène	Nom du gène	RT	P-valeur
Cabp2	calcium binding protein 2	1,34	1,70.10 ⁻³
Calcr1	calcitonin receptor like receptor	0,70	2,50.10 ⁻⁴
Car1	carbonic anhydrase 1	0,42	5,00.10 ⁻⁵
Cav1	caveolin 1	0,56	1,00.10 ⁻⁴
Cbx3	chromobox 3	0,63	1,55.10 ⁻³
Cbx6	chromobox 6	0,61	2,00.10 ⁻⁴
Ccdc120	coiled-coil domain containing 120	2,37	3,00.10 ⁻⁴
Ccdc124	coiled-coil domain containing 124	1,37	1,25.10 ⁻³
Ccng1	cyclin G1	0,71	2,00.10 ⁻⁴
Cdc42ep1	CDC42 effector protein 1	1,44	9,50.10 ⁻⁴
Cdc73	cell division cycle 73	0,67	1,05.10 ⁻³
Cdh1	cadherin 1	1,36	1,00.10 ⁻³
Cdkn1a	cyclin-dependent kinase inhibitor 1A	0,48	5,00.10 ⁻⁵
Cela1	chymotrypsin like elastase 1	1,43	5,00.10 ⁻⁵
Cep350	centrosomal protein 350	0,72	1,20.10 ⁻³
Cers6	ceramide synthase 6	0,64	5,00.10 ⁻⁵
Cfap126	cilia and flagella associated protein 126	1,67	5,00.10 ⁻⁵
Cfap70	cilia and flagella associated protein 70	2,07	3,50.10 ⁻⁴
Chmp4c	charged multivesicular body protein 4C	0,63	7,50.10 ⁻⁴
Chordc1	cysteine and histidine rich domain containing 1	0,70	1,50.10 ⁻⁴
Chp1	calcineurin-like EF-hand protein 1	0,71	1,50.10 ⁻⁴
Chrna2	cholinergic receptor nicotinic alpha 2 subunit	0,43	5,00.10 ⁻⁵
Cib2	calcium and integrin binding family member 2	0,28	5,00.10 ⁻⁵
Clca5	chloride channel accessory 5	0,57	1,25.10 ⁻³
Clcf1	cardiotrophin-like cytokine factor 1	1,85	1,90.10 ⁻³
Cldn1	claudin 1	0,70	5,00.10 ⁻⁵
Cmtm6	CKLF-like MARVEL transmembrane domain containing 6	0,68	5,00.10 ⁻⁵
Col14a1	collagen type XIV alpha 1 chain	0,62	5,00.10 ⁻⁵
Col5a2	collagen type V alpha 2 chain	0,66	1,65.10 ⁻³
Colec10	collectin subfamily member 10	0,73	8,00.10 ⁻⁴
Cox6a1	cytochrome c oxidase subunit 6A1	1,38	1,00.10 ⁻⁴
Cpt1b	carnitine palmitoyltransferase 1B	0,59	5,00.10 ⁻⁵
Creb3l2	cAMP responsive element binding protein 3-like 2	0,72	1,75.10 ⁻³
Crlf2	cytokine receptor-like factor 2	1,53	1,25.10 ⁻³
Crot	carnitine O-octanoyltransferase	0,59	5,00.10 ⁻⁵
Cry2	cryptochrome circadian regulator 2	1,38	1,35.10 ⁻³
Csad	cysteine sulfinic acid decarboxylase	0,64	2,00.10 ⁻⁴
Csf2ra	colony stimulating factor 2 receptor subunit alpha	1,50	1,15.10 ⁻³

Gène	Nom du gène	RT	P-valeur
Csm1d1	CUB and Sushi multiple domains 1	0,34	5,00.10 ⁻⁵
Ctps1	CTP synthase 1	0,64	5,50.10 ⁻⁴
Cxcl1	C-X-C motif chemokine ligand 1	0,25	5,00.10 ⁻⁵
Cyfp2	cytoplasmic FMR1 interacting protein 2	0,16	5,00.10 ⁻⁵
Cyp17a1	cytochrome P450, family 17, subfamily a, polypeptide 1	0,70	4,50.10 ⁻⁴
Cyp2f4	cytochrome P450, family 2, subfamily f, polypeptide 4	1,33	1,25.10 ⁻³
Cyp3a23/3a1	-	0,07	5,00.10 ⁻⁵
Cyp4a1	cytochrome P450, family 4, subfamily a, polypeptide 1	0,70	4,00.10 ⁻⁴
Cyp4a8	cytochrome P450, family 4, subfamily a, polypeptide 8	0,44	5,00.10 ⁻⁵
Cyp7b1	cytochrome P450 family 7 subfamily B member 1	0,60	5,00.10 ⁻⁵
Dab1	DAB adaptor protein 1	0,59	5,00.10 ⁻⁵
Dbp	D-box binding PAR bZIP transcription factor	1,93	5,00.10 ⁻⁵
Dcxc	dicarbonyl and L-xylulose reductase	1,35	1,60.10 ⁻³
Dennd1b	DENN domain containing 1B	0,73	9,50.10 ⁻⁴
Dennd5b	DENN domain containing 5B	0,74	1,40.10 ⁻³
Dexi	Dexi homolog	1,36	1,15.10 ⁻³
Dhrsx	dehydrogenase/reductase X-linked	1,42	8,00.10 ⁻⁴
Dkc1	dyskerin pseudouridine synthase 1	1,40	2,50.10 ⁻⁴
Dmd	dystrophin	0,74	1,65.10 ⁻³
Dmtn	dematin actin binding protein	1,95	5,00.10 ⁻⁵
Dmxl2	Dmx-like 2	0,68	2,50.10 ⁻⁴
Dnajb9	DnaJ heat shock protein family (Hsp40) member B9	0,62	5,00.10 ⁻⁵
Dpysl2	dihydropyrimidinase-like 2	0,67	1,80.10 ⁻³
Dtx1	deltex E3 ubiquitin ligase 1	0,10	3,50.10 ⁻⁴
Dusp1	dual specificity phosphatase 1	1,97	5,00.10 ⁻⁵
Edem1	ER degradation enhancing alpha-mannosidase like protein 1	0,71	3,00.10 ⁻⁴
Edem3	ER degradation enhancing alpha-mannosidase like protein 3	0,71	7,00.10 ⁻⁴
Ednrb	endothelin receptor type B	0,70	9,50.10 ⁻⁴
Egfr	epidermal growth factor receptor	0,71	4,00.10 ⁻⁴
Ehhadh	enoyl-CoA hydratase and 3-hydroxyacyl CoA dehydrogenase	0,58	5,00.10 ⁻⁵
Ehmt2	euchromatic histone lysine methyltransferase 2	1,34	1,75.10 ⁻³
Eif1a	eukaryotic translation initiation factor 1A	0,68	1,50.10 ⁻⁴
Enc1	ectodermal-neural cortex 1	0,71	9,00.10 ⁻⁴
Enpep	glutamyl aminopeptidase	0,70	1,00.10 ⁻⁴
Enpp4	ectonucleotide pyrophosphatase/phosphodiesterase 4	0,61	2,00.10 ⁻⁴
Esr1	estrogen receptor 1	0,61	5,00.10 ⁻⁵
Etnk2	ethanolamine kinase 2	1,56	5,00.10 ⁻⁵
Fam173a	-	1,38	2,05.10 ⁻³

Gène	Nom du gène	RT	P-valeur
Fam193b	family with sequence similarity 193, member B	1,62	5,00.10 ⁻⁵
Fam98c	family with sequence similarity 98, member C	1,73	1,00.10 ⁻⁴
Fance	FA complementation group E	1,66	5,00.10 ⁻⁵
Fancm	FA complementation group M	0,64	8,00.10 ⁻⁴
Farsb	phenylalanyl-tRNA synthetase subunit beta	0,72	9,00.10 ⁻⁴
Fat1	FAT atypical cadherin 1	0,70	5,00.10 ⁻⁵
Fau	FAU, ubiquitin like and ribosomal protein S30 fusion	1,33	1,20.10 ⁻³
Fdx1l	-	1,43	9,50.10 ⁻⁴
Fdxr	ferredoxin reductase	1,48	5,00.10 ⁻⁵
Fgd4	FYVE, RhoGEF and PH domain containing 4	0,70	9,50.10 ⁻⁴
Ficd	FIC domain protein adenylyltransferase	0,65	2,50.10 ⁻⁴
Fkbp2	FKBP prolyl isomerase 2	1,39	2,00.10 ⁻⁴
Fkbp8	FKBP prolyl isomerase 8	1,47	5,00.10 ⁻⁵
Fktn	fukutin	0,69	1,00.10 ⁻⁴
Flywch2	FLYWCH family member 2	2,31	1,00.10 ⁻⁴
Fndc3b	fibronectin type III domain containing 3B	0,75	1,05.10 ⁻³
Fnip1	folliculin interacting protein 1	0,70	1,50.10 ⁻⁴
Fnip2	folliculin interacting protein 2	0,75	1,30.10 ⁻³
Foxa3	forkhead box A3	1,46	5,00.10 ⁻⁵
Foxn3	forkhead box N3	0,75	1,35.10 ⁻³
Foxo1	forkhead box O1	0,70	1,90.10 ⁻³
Frk	fyn-related Src family tyrosine kinase	0,74	1,60.10 ⁻³
Fxyd1	FXDY domain-containing ion transport regulator 1	1,35	1,35.10 ⁻³
Gadd45b	growth arrest and DNA-damage-inducible, beta	0,52	1,50.10 ⁻⁴
Gadd45g	growth arrest and DNA-damage-inducible, gamma	2,23	5,00.10 ⁻⁵
Gbp2	guanylate binding protein 2	0,64	6,50.10 ⁻⁴
Gbp5	guanylate binding protein 5	0,53	2,50.10 ⁻⁴
Gda	guanine deaminase	0,63	5,00.10 ⁻⁵
Gimd1	GIMAP family P-loop NTPase domain containing 1	0,33	5,00.10 ⁻⁵
Gltscr2	-	1,35	1,05.10 ⁻³
Gnb2	G protein subunit beta 2	1,38	5,00.10 ⁻⁴
Gnmt	glycine N-methyltransferase	1,42	1,00.10 ⁻⁴
Gpc3	glypican 3	0,50	4,50.10 ⁻⁴
Gpm6a	glycoprotein m6a	0,40	5,00.10 ⁻⁵
Gsta2	glutathione S-transferase alpha 2	0,51	5,00.10 ⁻⁵
Gucy1a3	-	0,72	1,85.10 ⁻³
Hba-a1	hemoglobin alpha, adult chain 1	2,03	5,00.10 ⁻⁵
Hba1	-	1,89	5,00.10 ⁻⁵

Gène	Nom du gène	RT	P-valeur
Hba2	-	1,85	5,00.10 ⁻⁵
Hbb	hemoglobin subunit beta	1,92	5,00.10 ⁻⁵
Hdgfrp3	-	0,19	5,00.10 ⁻⁵
Hdhd3	haloacid dehalogenase-like hydrolase domain containing 3	1,33	1,60.10 ⁻³
Hes6	hes family bHLH transcription factor 6	1,62	5,00.10 ⁻⁵
Hgf	hepatocyte growth factor	0,54	5,00.10 ⁻⁵
Hipk2	homeodomain interacting protein kinase 2	0,66	1,00.10 ⁻⁴
Hmg20b	high mobility group 20 B	1,36	2,05.10 ⁻³
Hmgcr	3-hydroxy-3-methylglutaryl-CoA reductase	0,72	7,50.10 ⁻⁴
Hmgcs1	3-hydroxy-3-methylglutaryl-CoA synthase 1	0,65	5,00.10 ⁻⁵
Hsd12	hydroxysteroid dehydrogenase like 2	0,74	1,85.10 ⁻³
Hsp90aa1	heat shock protein 90 alpha family class A member 1	0,12	5,00.10 ⁻⁵
Hspa13	heat shock protein family A (Hsp70) member 13	0,73	1,95.10 ⁻³
Hsph1	heat shock protein family H (Hsp110) member 1	0,65	5,00.10 ⁻⁵
Hyi	hydroxypyruvate isomerase	1,53	5,00.10 ⁻⁵
Idi1	isopentenyl-diphosphate delta isomerase 1	0,61	1,20.10 ⁻³
Ier2	immediate early response 2	1,83	5,00.10 ⁻⁵
Iffo1	intermediate filament family orphan 1	1,42	1,05.10 ⁻³
Igfbp1	insulin-like growth factor binding protein 1	0,50	5,00.10 ⁻⁵
Igfbp2	insulin-like growth factor binding protein 2	1,65	1,00.10 ⁻⁴
Igfbp3	insulin-like growth factor binding protein 3	0,70	5,00.10 ⁻⁵
Ihh	Indian hedgehog signaling molecule	1,54	1,95.10 ⁻³
Il3ra	interleukin 3 receptor subunit alpha	1,60	1,95.10 ⁻³
Il6st	interleukin 6 signal transducer	0,66	5,00.10 ⁻⁵
Inafm1	InaF-motif containing 1	1,60	3,00.10 ⁻⁴
Inf2	inverted formin 2	0,68	1,05.10 ⁻³
Inmt	indolethylamine N-methyltransferase	1,92	5,00.10 ⁻⁵
Inpp5b	inositol polyphosphate-5-phosphatase B	0,57	3,50.10 ⁻⁴
Irs1	insulin receptor substrate 1	0,67	5,00.10 ⁻⁵
Irs2	insulin receptor substrate 2	0,59	5,00.10 ⁻⁵
Irs3	insulin receptor substrate 3	1,64	1,30.10 ⁻³
Itgav	integrin subunit alpha V	0,73	9,50.10 ⁻⁴
Itpr1	inositol 1,4,5-trisphosphate receptor, type 1	0,67	1,00.10 ⁻⁴
Junb	JunB proto-oncogene, AP-1 transcription factor subunit	0,62	5,00.10 ⁻⁵
Kank2	KN motif and ankyrin repeat domains 2	1,42	3,00.10 ⁻⁴
Khk	ketoheokinase	1,39	4,00.10 ⁻⁴
Kifc2	kinesin family member C2	1,95	5,00.10 ⁻⁵
Kifc3	kinesin family member C3	1,55	9,50.10 ⁻⁴

Gène	Nom du gène	RT	P-valeur
Klc4	kinesin light chain 4	1,33	1,90.10 ⁻³
Lamb1	laminin subunit beta 1	0,65	1,35.10 ⁻³
Larp4	La ribonucleoprotein 4	0,62	5,00.10 ⁻⁵
Lcn12	lipocalin 12	1,54	1,50.10 ⁻⁴
Lifr	LIF receptor subunit alpha	0,59	5,00.10 ⁻⁵
Lilrb3	leukocyte immunoglobulin like receptor B3	0,63	5,00.10 ⁻⁵
Lims2	LIM zinc finger domain containing 2	1,49	1,00.10 ⁻⁴
Llgl2	LLGL scribble cell polarity complex component 2	1,36	7,50.10 ⁻⁴
LOC100364500	RT1 class I, locus CE11-like	1,94	1,50.10 ⁻³
LOC100909561	nuclease-sensitive element-binding protein 1-like	2,71	1,25.10 ⁻³
LOC100910385	peroxisomal acyl-coenzyme A oxidase 1-like	0,64	5,00.10 ⁻⁵
LOC100910877	cytochrome P450 3A1-like	0,26	5,00.10 ⁻⁵
LOC100911558	serine protease inhibitor Kazal-type 3-like	0,06	1,50.10 ⁻⁴
LOC100911847	40S ribosomal protein S14-like	1,38	6,00.10 ⁻⁴
LOC102553917	putative zinc finger protein 724-like	0,55	5,00.10 ⁻⁵
LOC102554194	zinc finger protein 709-like	0,61	1,95.10 ⁻³
LOC102554977	complement factor H-related protein 1-like	0,61	5,00.10 ⁻⁵
LOC102555634	interferon-inducible GTPase 1-like	0,64	1,00.10 ⁻⁴
LOC103690108	class I histocompatibility antigen, Non-RT1.A alpha-1 chain-like	2,90	5,00.10 ⁻⁵
LOC103692273	zinc finger protein 431-like	0,37	5,00.10 ⁻⁵
LOC103694328	alanine and glycine-rich protein-like	0,74	1,05.10 ⁻³
LOC108348077	major urinary protein-like	0,59	5,00.10 ⁻⁵
LOC108349760	dentin sialophosphoprotein-like	0,46	5,00.10 ⁻⁵
LOC305639	similar to heat shock protein 8	0,33	2,00.10 ⁻⁴
LOC366355	similar to L-lactate dehydrogenase A chain	1,79	3,00.10 ⁻⁴
LOC501038	Ab2-060	0,52	5,00.10 ⁻⁵
LOC501116	similar to Eif4g2 protein	0,62	3,00.10 ⁻⁴
LOC680875	similar to dystonin isoform 1	1,32	2,00.10 ⁻³
LOC685067	similar to guanylate binding protein family, member 6	0,47	5,00.10 ⁻⁵
LOC688530	similar to esterase D/formylglutathione hydrolase	2,17	5,00.10 ⁻⁵
LOC688655	similar to heat shock protein 8	0,69	1,00.10 ⁻³
Lpl	lipoprotein lipase	0,38	5,00.10 ⁻⁵
Lrba	LPS responsive beige-like anchor protein	0,74	2,50.10 ⁻⁴
Lrg1	leucine-rich alpha-2-glycoprotein 1	1,56	5,00.10 ⁻⁵
Lrp6	LDL receptor related protein 6	0,61	6,00.10 ⁻⁴
Lrrc58	leucine rich repeat containing 58	0,64	8,00.10 ⁻⁴
Ltbp1	latent transforming growth factor beta binding protein 1	0,60	1,00.10 ⁻⁴
Lzts2	leucine zipper tumor suppressor 2	1,62	7,00.10 ⁻⁴

Gène	Nom du gène	RT	P-valeur
Mapk14	mitogen activated protein kinase 14	0,74	9,50.10 ⁻⁴
Marchf6	membrane associated ring-CH-type finger 6	0,72	5,00.10 ⁻⁴
Marveld1	MARVEL domain containing 1	0,74	1,30.10 ⁻³
Mdk	midkine	2,65	6,00.10 ⁻⁴
Mfsd8	major facilitator superfamily domain containing 8	0,70	1,00.10 ⁻³
Mgat2	mannoside acetylglucosaminyltransferase 2	0,73	7,50.10 ⁻⁴
MGC105567	similar to cDNA sequence BC023105	0,45	5,00.10 ⁻⁵
Mib1	MIB E3 ubiquitin protein ligase 1	0,69	8,50.10 ⁻⁴
Mk1	Mk1 protein	0,75	1,55.10 ⁻³
Mmd2	monocyte to macrophage differentiation-associated 2	1,85	2,50.10 ⁻⁴
Mme	membrane metallo-endopeptidase	0,49	5,00.10 ⁻⁵
Mocos	molybdenum cofactor sulfurase	0,58	5,00.10 ⁻⁵
Mpeg1	macrophage expressed 1	0,72	5,00.10 ⁻⁴
Mpnd	MPN domain containing	1,38	1,50.10 ⁻⁴
Mpp1	membrane palmitoylated protein 1	1,43	5,00.10 ⁻⁵
Mrpl1	mitochondrial ribosomal protein L1	0,13	1,50.10 ⁻⁴
Mrpl14	mitochondrial ribosomal protein L14	1,46	5,00.10 ⁻⁵
Msmo1	methylsterol monooxygenase 1	0,73	1,75.10 ⁻³
Mt1	metallothionein 1	1,43	2,50.10 ⁻⁴
Mthfr	methylenetetrahydrofolate reductase	0,59	5,00.10 ⁻⁵
Mybl1	MYB proto-oncogene like 1	0,56	5,00.10 ⁻⁵
Mybl2	MYB proto-oncogene like 2	0,47	6,00.10 ⁻⁴
Myh14	myosin heavy chain 14	1,58	7,50.10 ⁻⁴
Myh9	myosin, heavy chain 9	0,58	2,00.10 ⁻³
Nampt	nicotinamide phosphoribosyltransferase	0,56	5,00.10 ⁻⁵
Nbn	nibrin	0,73	4,50.10 ⁻⁴
Ndufb10	NADH :ubiquinone oxidoreductase subunit B10	1,32	1,35.10 ⁻³
Ndufb8	NADH :ubiquinone oxidoreductase subunit B8	1,32	2,00.10 ⁻³
Nfkbiz	NFKB inhibitor zeta	0,66	1,50.10 ⁻⁴
Nid1	nidogen 1	0,69	1,50.10 ⁻⁴
Nim1k	NIM1 serine/threonine protein kinase	0,66	5,00.10 ⁻⁵
Ninj1	ninjurin 1	1,37	3,00.10 ⁻⁴
Nipal2	NIPA-like domain containing 2	0,49	5,00.10 ⁻⁵
Nqo1	NAD(P)H quinone dehydrogenase 1	1,83	5,00.10 ⁻⁵
Nr0b2	nuclear receptor subfamily 0, group B, member 2	2,57	5,00.10 ⁻⁵
Nr1h4	nuclear receptor subfamily 1, group H, member 4	0,73	3,00.10 ⁻⁴
Nr2c2	nuclear receptor subfamily 2, group C, member 2	0,64	2,50.10 ⁻⁴
Nr4a1	nuclear receptor subfamily 4, group A, member 1	4,16	5,00.10 ⁻⁵

Gène	Nom du gène	RT	P-valeur
Nrep	neuronal regeneration related protein	0,66	1,55.10 ⁻³
Nrg1	neuregulin 1	0,39	1,65.10 ⁻³
Nrp2	neuropilin 2	0,43	5,00.10 ⁻⁵
Nudt14	nudix hydrolase 14	1,47	8,00.10 ⁻⁴
Oaf	out at first homolog	1,34	1,45.10 ⁻³
Ocl1	occludin/ELL domain containing 1	1,51	1,50.10 ⁻⁴
Onecut2	one cut homeobox 2	0,71	5,00.10 ⁻⁵
Orai1	ORAI calcium release-activated calcium modulator 1	1,39	1,35.10 ⁻³
Osbp17	oxysterol binding protein-like 7	1,73	1,00.10 ⁻⁴
P4ha1	prolyl 4-hydroxylase subunit alpha 1	0,66	2,00.10 ⁻⁴
Papss1	3'-phosphoadenosine 5'-phosphosulfate synthase 1	0,59	4,50.10 ⁻⁴
Paqr9	progesterin and adipoQ receptor family member 9	0,61	5,00.10 ⁻⁵
Parp14	poly (ADP-ribose) polymerase family, member 14	0,69	5,00.10 ⁻⁵
Pcdh18	protocadherin 18	0,59	5,00.10 ⁻⁵
Pcp4l1	Purkinje cell protein 4-like 1	0,52	5,00.10 ⁻⁵
Pcsk5	proprotein convertase subtilisin/kexin type 5	0,64	6,00.10 ⁻⁴
Pdgfra	platelet derived growth factor receptor alpha	0,67	2,00.10 ⁻⁴
Pdk4	pyruvate dehydrogenase kinase 4	0,55	5,00.10 ⁻⁵
Per2	period circadian regulator 2	1,46	1,70.10 ⁻³
Pex16	peroxisomal biogenesis factor 16	1,34	1,75.10 ⁻³
Pfkfb1	6-phosphofructo-2-kinase/fructose-2,6-biphosphatase 1	0,56	5,00.10 ⁻⁵
Pgpep1	pyroglutamyl-peptidase I	0,75	1,60.10 ⁻³
Phf1	PHD finger protein 1	1,42	4,00.10 ⁻⁴
Phf19	PHD finger protein 19	1,64	2,50.10 ⁻⁴
Phldb3	pleckstrin homology-like domain, family B, member 3	1,60	1,25.10 ⁻³
Pign	phosphatidylinositol glycan anchor biosynthesis, class N	0,72	1,60.10 ⁻³
Pld6	phospholipase D family, member 6	2,00	4,00.10 ⁻⁴
Polrmt	RNA polymerase mitochondrial	1,42	4,00.10 ⁻⁴
Ppp1r16a	protein phosphatase 1, regulatory subunit 16A	1,44	1,50.10 ⁻⁴
Ppp1r3g	protein phosphatase 1, regulatory subunit 3G	0,27	5,00.10 ⁻⁵
Ppp2r2b	protein phosphatase 2, regulatory subunit B, beta	0,39	5,00.10 ⁻⁵
Preli2	PRELI domain containing 2	0,69	4,00.10 ⁻⁴
Prkaa2	protein kinase AMP-activated catalytic subunit alpha 2	0,73	4,50.10 ⁻⁴
Prlr	prolactin receptor	0,59	5,00.10 ⁻⁵
Prnp	prion protein	0,45	5,00.10 ⁻⁵
Prodh2	proline dehydrogenase 2	1,34	1,05.10 ⁻³
Prpf40b	pre-mRNA processing factor 40 homolog B	1,40	2,00.10 ⁻³
Prps2	phosphoribosyl pyrophosphate synthetase 2	0,71	1,75.10 ⁻³

Gène	Nom du gène	RT	P-valeur
Prrg4	proline rich and Gla domain 4	0,57	5,00.10 ⁻⁵
Prss36	serine protease 36	1,85	1,50.10 ⁻⁴
Psd3	pleckstrin and Sec7 domain containing 3	0,75	1,55.10 ⁻³
Pten	phosphatase and tensin homolog	0,75	2,05.10 ⁻³
Ptgfr	prostaglandin F receptor	0,68	5,50.10 ⁻⁴
Ptgis	prostaglandin I2 synthase	0,50	8,50.10 ⁻⁴
Ptms	parathyrosin	1,70	5,00.10 ⁻⁵
Ptprh	protein tyrosine phosphatase, receptor type, H	2,79	5,00.10 ⁻⁵
Rab30	RAB30, member RAS oncogene family	0,56	5,00.10 ⁻⁵
Rasd1	ras related dexamethasone induced 1	1,74	2,00.10 ⁻⁴
Rasgef1b	RasGEF domain family, member 1B	0,57	5,00.10 ⁻⁵
Rb1	RB transcriptional corepressor 1	0,57	2,00.10 ⁻⁴
Rcan2	regulator of calcineurin 2	0,66	1,50.10 ⁻⁴
Reln	reelin	0,70	2,00.10 ⁻⁴
Reps2	RALBP1 associated Eps domain containing 2	0,70	2,00.10 ⁻⁴
RGD1305347	similar to RIKEN cDNA 2610528J11	1,40	6,00.10 ⁻⁴
RGD1305938	similar to expressed sequence AW549877	0,72	1,45.10 ⁻³
RGD1307603	similar to hypothetical protein MGC37914	1,39	9,00.10 ⁻⁴
RGD1309079	-	0,72	6,50.10 ⁻⁴
RGD1309621	-	0,73	1,10.10 ⁻³
RGD1309821	-	0,71	2,00.10 ⁻⁴
RGD1560242	similar to RIKEN cDNA 1700028P14	inf	5,00.10 ⁻⁵
RGD1561849	-	0,51	5,00.10 ⁻⁵
RGD1563091	-	0,64	1,15.10 ⁻³
RGD1563941	similar to hypothetical protein FLJ20010	1,46	1,50.10 ⁻⁴
RGD1564131	similar to solute carrier family 25, member 5	1,65	1,15.10 ⁻³
RGD1564804	similar to chromosome 1 open reading frame 50	1,37	6,50.10 ⁻⁴
RGD1566085	similar to pyridoxal (pyridoxine, vitamin B6) kinase	0,56	5,00.10 ⁻⁵
Rgs16	regulator of G-protein signaling 16	0,14	5,00.10 ⁻⁵
Rnd2	Rho family GTPase 2	1,43	5,00.10 ⁻⁵
Rnf144b	ring finger protein 144B	0,74	4,50.10 ⁻⁴
Rnf19a	ring finger protein 19A, RBR E3 ubiquitin protein ligase	0,76	1,95.10 ⁻³
Rpl18a	ribosomal protein L18A	1,39	2,00.10 ⁻⁴
RT1-A1	RT1 class Ia, locus A1	1,94	5,00.10 ⁻⁵
RT1-CE10	RT1 class I, locus CE10	1,38	1,05.10 ⁻³
RT1-CE7	RT1 class I, locus CE7	1,53	6,00.10 ⁻⁴
RT1-N2	RT1 class Ib, locus N2	4,99	5,00.10 ⁻⁵
RT1-N3	RT1 class Ib, locus N3	1,94	5,00.10 ⁻⁵

Gène	Nom du gène	RT	P-valeur
RT1-P2-ps1	RT1 class I, locus P2, pseudogene 1	0,46	4,50.10 ⁻⁴
Rtel1	regulator of telomere elongation helicase 1	1,75	5,00.10 ⁻⁵
Rtn4	reticulon 4	0,60	5,00.10 ⁻⁵
Rtn4ip1	reticulon 4 interacting protein 1	0,68	1,30.10 ⁻³
Rusc2	RUN and SH3 domain containing 2	1,47	5,00.10 ⁻⁵
Rybp	RING1 and YY1 binding protein	0,74	1,80.10 ⁻³
Sarm1	sterile alpha and TIR motif containing 1	0,52	2,50.10 ⁻⁴
Scrn2	secernin 2	1,38	9,50.10 ⁻⁴
Sds	serine dehydratase	1,99	5,00.10 ⁻⁵
Sdsl	serine dehydratase-like	1,45	9,00.10 ⁻⁴
Sec23b	Sec23 homolog B, COPII coat complex component	0,75	1,70.10 ⁻³
Sec24a	SEC24 homolog A, COPII coat complex component	0,73	6,50.10 ⁻⁴
Seli	-	0,75	1,25.10 ⁻³
Sema3d	semaphorin 3D	0,60	6,00.10 ⁻⁴
Sf3b5	splicing factor 3b, subunit 5	1,38	5,00.10 ⁻⁴
Sirt7	sirtuin 7	1,44	6,00.10 ⁻⁴
Slc12a1	solute carrier family 12 member 1	0,44	5,00.10 ⁻⁵
Slc16a11	solute carrier family 16, member 11	1,69	5,00.10 ⁻⁵
Slc17a1	solute carrier family 17 member 1	0,72	3,00.10 ⁻⁴
Slc25a10	solute carrier family 25 member 10	1,45	1,00.10 ⁻⁴
Slc25a48	solute carrier family 25, member 48	1,47	3,00.10 ⁻⁴
Slc2a12	solute carrier family 2 member 12	0,45	5,00.10 ⁻⁵
Slc39a3	solute carrier family 39 member 3	1,37	1,65.10 ⁻³
Slc39a5	solute carrier family 39 member 5	1,53	1,80.10 ⁻³
Slc4a4	solute carrier family 4 member 4	0,71	1,50.10 ⁻⁴
Slc9a7	solute carrier family 9 member A7	0,33	5,00.10 ⁻⁵
Smdt1	single-pass membrane protein with aspartate-rich tail 1	1,33	1,15.10 ⁻³
Snrnp70	small nuclear ribonucleoprotein U1 subunit 70	1,50	5,00.10 ⁻⁵
Sorbs3	sorbin and SH3 domain containing 3	1,51	3,00.10 ⁻⁴
Sp3	Sp3 transcription factor	0,67	2,00.10 ⁻⁴
Spcs3	signal peptidase complex subunit 3	0,74	1,70.10 ⁻³
Sptbn1	spectrin, beta, non-erythrocytic 1	0,75	1,35.10 ⁻³
Sqle	squalene epoxidase	0,58	5,00.10 ⁻⁵
Srebf1	sterol regulatory element binding transcription factor 1	1,63	5,00.10 ⁻⁵
St3gal1	ST3 beta-galactoside alpha-2,3-sialyltransferase 1	0,70	1,50.10 ⁻⁴
St3gal5	ST3 beta-galactoside alpha-2,3-sialyltransferase 5	0,65	2,00.10 ⁻⁴
St8sia1	ST8 alpha-N-acetyl-neuraminide alpha-2,8-sialyltransferase 1	0,29	5,00.10 ⁻⁵
Stat3	signal transducer and activator of transcription 3	0,73	6,00.10 ⁻⁴

Gène	Nom du gène	RT	P-valeur
Steap4	STEAP4 metalloredutase	0,71	5,00.10 ⁻⁵
Suco	SUN domain containing ossification factor	0,69	5,00.10 ⁻⁵
Sym	synemin	0,68	5,00.10 ⁻⁴
Tbck	TBC1 domain containing kinase	0,68	5,50.10 ⁻⁴
Tcp1111	t-complex 11 like 1	0,60	5,00.10 ⁻⁵
Tead1	TEA domain transcription factor 1	0,68	5,00.10 ⁻⁵
Tle2	TLE family member 2, transcriptional corepressor	1,51	5,00.10 ⁻⁴
Tmed3	transmembrane p24 trafficking protein 3	0,51	5,00.10 ⁻⁵
Tmed5	transmembrane p24 trafficking protein 5	0,74	1,40.10 ⁻³
Tmem106b	transmembrane protein 106B	0,74	1,15.10 ⁻³
Tmem144	transmembrane protein 144	0,73	1,50.10 ⁻³
Tmem160	transmembrane protein 160	1,43	4,00.10 ⁻⁴
Tmem30b	transmembrane protein 30B	0,68	1,95.10 ⁻³
Tmem38b	transmembrane protein 38B	0,72	1,50.10 ⁻⁴
Tnfrsf11b	TNF receptor superfamily member 11B	0,54	5,00.10 ⁻⁵
Tnpol	transportin 1	0,73	4,00.10 ⁻⁴
Tomm6	translocase of outer mitochondrial membrane 6	1,37	6,00.10 ⁻⁴
Tp53i13	tumor protein p53 inducible protein 13	1,48	2,00.10 ⁻⁴
Tp53inp1	tumor protein p53 inducible nuclear protein 1	0,61	1,50.10 ⁻⁴
Tpcn2	two pore segment channel 2	1,39	4,50.10 ⁻⁴
Trappc6a	trafficking protein particle complex 6A	1,45	1,50.10 ⁻⁴
Trhde	thyrotropin-releasing hormone degrading enzyme	0,71	6,50.10 ⁻⁴
Trip6	thyroid hormone receptor interactor 6	1,83	5,00.10 ⁻⁵
Tsc22d1	TSC22 domain family, member 1	1,54	5,00.10 ⁻⁵
Tstd1	thiosulfate sulfurtransferase like domain containing 1	1,38	1,15.10 ⁻³
Tysnd1	trypsin like peroxisomal matrix peptidase 1	1,33	2,05.10 ⁻³
Ubd	ubiquitin D	37,48	5,00.10 ⁻⁵
Ubxn1	UBX domain protein 1	1,33	1,50.10 ⁻³
Uggt1	UDP-glucose glycoprotein glucosyltransferase 1	0,73	8,00.10 ⁻⁴
Ugt2a3	UDP glucuronosyltransferase family 2 member A3	0,63	5,00.10 ⁻⁵
Unc5d	unc-5 netrin receptor D	0,49	5,00.10 ⁻⁵
Uqcr10	ubiquinol-cytochrome c reductase, complex III subunit X	1,30	2,00.10 ⁻³
Use1	unconventional SNARE in the ER 1	1,34	1,65.10 ⁻³
Usp2	ubiquitin specific peptidase 2	1,49	1,90.10 ⁻³
Usp25	ubiquitin specific peptidase 25	0,69	6,00.10 ⁻⁴
UST4r	integral membrane transport protein UST4r	0,64	5,00.10 ⁻⁵
Vps13a	vacuolar protein sorting 13 homolog A	0,71	2,50.10 ⁻⁴
Vps13c	vacuolar protein sorting 13 homolog C	0,73	5,50.10 ⁻⁴

Gène	Nom du gène	RT	P-valeur
Vsig10	V-set and immunoglobulin domain containing 10	0,42	5,00.10 ⁻⁵
Wfdc2	WAP four-disulfide core domain 2	1,49	5,00.10 ⁻⁵
XAF1	XIAP associated factor 1	0,62	6,00.10 ⁻⁴
Xk	X-linked Kx blood group	0,69	1,10.10 ⁻³
Xrcc1	X-ray repair cross complementing 1	1,71	5,00.10 ⁻⁵
Zbtb16	zinc finger and BTB domain containing 16	0,64	9,50.10 ⁻⁴
Zbtb22	zinc finger and BTB domain containing 22	1,40	1,75.10 ⁻³
Zdhhc23	zinc finger DHHC-type palmitoyltransferase 23	0,74	1,15.10 ⁻³
Zfp46	zinc finger protein 46	0,70	5,50.10 ⁻⁴
Zfp503	zinc finger protein 503	0,58	3,00.10 ⁻⁴
Zfp513	zinc finger protein 513	1,51	5,00.10 ⁻⁵
Zfp771	zinc finger protein 771	1,69	5,00.10 ⁻⁵
Zhx3	zinc fingers and homeoboxes 3	0,72	4,00.10 ⁻⁴
Zmat3	zinc finger, matrin type 3	0,67	1,15.10 ⁻³
Zyg11b	zyg-11 family member B, cell cycle regulator	0,74	1,40.10 ⁻³

Annexe 3 - Gènes hépatiques différentiellement transcrits pour les mâles F1 du groupe LD

Gène	Nom du gène	RT	P-valeur
A2ml1	alpha-2-macroglobulin-like 1	1,89	5,00.10 ⁻⁵
Aass	aminoadipate-semialdehyde synthase	1,35	3,50.10 ⁻⁴
Abca8a	ATP-binding cassette, subfamily A (ABC1), member 8a	1,57	5,00.10 ⁻⁵
Abcg5	ATP binding cassette subfamily G member 5	0,74	5,50.10 ⁻⁴
Abcg8	ATP binding cassette subfamily G member 8	0,63	1,00.10 ⁻⁴
Acaa1b	acetyl-Coenzyme A acyltransferase 1B	0,70	5,00.10 ⁻⁵
Acad9	acyl-CoA dehydrogenase family, member 9	1,31	5,50.10 ⁻⁴
Acnat1	acyl-coenzyme A amino acid N-acyltransferase 1	0,71	2,00.10 ⁻⁴
Acnat2	acyl-coenzyme A amino acid N-acyltransferase 2	1,60	5,00.10 ⁻⁵
Acot5	acyl-CoA thioesterase 5	1,35	7,00.10 ⁻⁴
Acta2	actin alpha 2, smooth muscle	2,20	3,50.10 ⁻⁴
Adh4	alcohol dehydrogenase 4 (class II), pi polypeptide	1,58	5,00.10 ⁻⁵
Agxt2	alanine-glyoxylate aminotransferase 2	1,63	5,00.10 ⁻⁵
Ahr	aryl hydrocarbon receptor	1,62	5,00.10 ⁻⁵
Ajuba	ajuba LIM protein	0,66	3,00.10 ⁻⁴
Akap2	A-kinase anchoring protein 2	1,42	5,00.10 ⁻⁵
Akap8l	A-kinase anchoring protein 8 like	1,30	1,00.10 ⁻³
Akr1b7	aldo-keto reductase family 1, member B7	13,93	1,50.10 ⁻⁴
Akr1c1	aldo-keto reductase family 1, member C1	1,34	7,50.10 ⁻⁴
Ammecr1l	AMMECR1 like	0,67	5,00.10 ⁻⁵
Apol3	apolipoprotein L, 3	0,75	8,00.10 ⁻⁴
Ar	androgen receptor	0,52	1,50.10 ⁻⁴
Arhgap29	Rho GTPase activating protein 29	0,71	5,00.10 ⁻⁵
Atf3	activating transcription factor 3	0,58	6,00.10 ⁻⁴
Atp1b1	ATPase Na ⁺ /K ⁺ transporting subunit beta 1	1,42	5,00.10 ⁻⁵
Atp5f1	-	0,38	2,50.10 ⁻⁴
B3gnt2	UDP-GlcNAc :betaGal beta-1,3-N-acetylglucosaminyltransferase 2	0,71	1,00.10 ⁻⁴
Bcl6	BCL6, transcription repressor	7,43	5,00.10 ⁻⁵
Bco1	beta-carotene oxygenase 1	0,27	5,00.10 ⁻⁵
Bhlhe40	basic helix-loop-helix family, member e40	0,49	5,00.10 ⁻⁵
Birc2	baculoviral IAP repeat-containing 2	0,72	1,00.10 ⁻⁴

Gène	Nom du gène	RT	P-valeur
Btbd11	BTB domain containing 11	0,72	1,50.10 ⁻⁴
Btg2	BTG anti-proliferation factor 2	0,67	5,00.10 ⁻⁵
C1qtnf3	C1q and TNF related 3	2,10	5,00.10 ⁻⁵
C6	complement C6	1,61	5,00.10 ⁻⁵
Car1	carbonic anhydrase 1	0,53	2,50.10 ⁻⁴
Cav2	caveolin 2	0,69	5,00.10 ⁻⁵
Ccnf	cyclin F	0,52	5,00.10 ⁻⁵
Cd274	CD274 molecule	0,60	1,50.10 ⁻⁴
Cd300lf	Cd300 molecule-like family member F	1,60	5,00.10 ⁻⁵
Cd36	CD36 molecule	1,45	3,50.10 ⁻⁴
Cdkn1a	cyclin-dependent kinase inhibitor 1A	0,52	5,00.10 ⁻⁵
Cebpb	CCAAT/enhancer binding protein beta	0,66	5,00.10 ⁻⁵
Ces2	carboxylesterase 2	3,56	5,00.10 ⁻⁵
Cfap126	cilia and flagella associated protein 126	1,42	5,50.10 ⁻⁴
Chac1	ChaC glutathione-specific gamma-glutamylcyclotransferase 1	0,51	5,00.10 ⁻⁵
Chrna2	cholinergic receptor nicotinic alpha 2 subunit	0,56	5,00.10 ⁻⁵
Cish	cytokine inducible SH2-containing protein	0,31	5,00.10 ⁻⁵
Clk1	CDC-like kinase 1	1,32	3,50.10 ⁻⁴
Clstn1	calyntenin 1	1,48	1,50.10 ⁻⁴
Clybl	citramalyl-CoA lyase	1,92	5,00.10 ⁻⁵
Cpeb2	cytoplasmic polyadenylation element binding protein 2	1,66	5,00.10 ⁻⁵
Cry1l	crystallin, lambda 1	0,72	1,50.10 ⁻⁴
Csm1d1	CUB and Sushi multiple domains 1	0,65	3,00.10 ⁻⁴
Ctcf1	CCCTC-binding factor like	0,41	1,50.10 ⁻⁴
Cyfip2	cytoplasmic FMR1 interacting protein 2	1,67	8,50.10 ⁻⁴
Cyp2b2	cytochrome P450, family 2, subfamily b, polypeptide 2	0,48	5,00.10 ⁻⁵
Cyp2c12	cytochrome P450, family 2, subfamily c, polypeptide 12	2,17	5,00.10 ⁻⁵
Cyp2u1	cytochrome P450, family 2, subfamily u, polypeptide 1	0,55	5,00.10 ⁻⁵
Cyp3a23/3a1	-	0,06	5,00.10 ⁻⁵
Cyp7a1	cytochrome P450 family 7 subfamily A member 1	1,99	5,00.10 ⁻⁵
Dock11	dedicator of cytokinesis 11	0,53	5,00.10 ⁻⁵
Dpp6	dipeptidyl peptidase like 6	0,52	1,00.10 ⁻⁴
Dstnl1	destrin-like 1	2,13	5,00.10 ⁻⁵
Dusp1	dual specificity phosphatase 1	0,43	5,00.10 ⁻⁵
Dusp4	dual specificity phosphatase 4	0,21	7,00.10 ⁻⁴
Efna5	ephrin A5	1,60	6,00.10 ⁻⁴
Egr1	early growth response 1	1,68	5,00.10 ⁻⁵
Eif4ebp3	eukaryotic translation initiation factor 4E binding protein 3	1,42	2,00.10 ⁻⁴

groupe LD

Gène	Nom du gène	RT	P-valeur
Ell	elongation factor for RNA polymerase II	0,74	3,50.10 ⁻⁴
Errfi1	ERBB receptor feedback inhibitor 1	0,64	4,50.10 ⁻⁴
Esr1	estrogen receptor 1	1,35	8,00.10 ⁻⁴
Etnppl	ethanolamine-phosphate phospho-lyase	1,58	5,00.10 ⁻⁵
Fam89a	family with sequence similarity 89, member A	0,65	5,00.10 ⁻⁵
Foxa1	forkhead box A1	0,72	3,00.10 ⁻⁴
Foxa2	forkhead box A2	0,66	5,00.10 ⁻⁵
Foxo3	forkhead box O3	0,60	5,00.10 ⁻⁵
Frmd4b	FERM domain containing 4B	1,54	5,00.10 ⁻⁵
Gadd45a	growth arrest and DNA-damage-inducible, alpha	0,61	5,00.10 ⁻⁵
Gadd45g	growth arrest and DNA-damage-inducible, gamma	0,65	5,00.10 ⁻⁵
Gck	glucokinase	0,43	5,00.10 ⁻⁵
Gdnf	glial cell derived neurotrophic factor	5,64	5,00.10 ⁻⁵
Gne	glucosamine (UDP-N-acetyl)-2-epimerase/N-acetylmannosamine kinase	1,40	5,00.10 ⁻⁵
Gpm6a	glycoprotein m6a	0,63	5,00.10 ⁻⁵
Grem2	gremlin 2, DAN family BMP antagonist	0,60	5,00.10 ⁻⁵
Grpel2	GrpE-like 2, mitochondrial	1,43	8,50.10 ⁻⁴
Gstm4	glutathione S-transferase mu 4	1,39	5,00.10 ⁻⁵
Hdc	histidine decarboxylase	0,66	7,50.10 ⁻⁴
Hebp2	heme binding protein 2	0,31	5,00.10 ⁻⁵
Helz2	helicase with zinc finger 2	0,64	5,00.10 ⁻⁵
Hhex	hematopoietically expressed homeobox	0,57	5,00.10 ⁻⁵
Hist1h1c	-	0,71	4,00.10 ⁻⁴
Hmgn1	high mobility group nucleosome binding domain 1	0,56	5,00.10 ⁻⁵
Homer1	homer scaffold protein 1	1,46	5,00.10 ⁻⁵
Hrasls	-	1,51	3,50.10 ⁻⁴
Hsd17b2	hydroxysteroid (17-beta) dehydrogenase 2	0,64	5,00.10 ⁻⁵
Hsp90aa1	heat shock protein 90 alpha family class A member 1	0,62	7,00.10 ⁻⁴
Ier2	immediate early response 2	0,69	5,00.10 ⁻⁵
Ifitm3	interferon induced transmembrane protein 3	1,49	5,00.10 ⁻⁵
Igfbp2	insulin-like growth factor binding protein 2	1,43	5,50.10 ⁻⁴
Il33	interleukin 33	1,38	5,00.10 ⁻⁵
Il7	interleukin 7	0,53	2,00.10 ⁻⁴
Irf2bpl	interferon regulatory factor 2 binding protein-like	0,72	2,50.10 ⁻⁴
Jun	Jun proto-oncogene, AP-1 transcription factor subunit	0,59	5,00.10 ⁻⁵
Jund	JunD proto-oncogene, AP-1 transcription factor subunit	0,75	3,50.10 ⁻⁴
Kcnk5	potassium two pore domain channel subfamily K member 5	1,40	6,00.10 ⁻⁴
Klf9	Kruppel-like factor 9	0,62	5,00.10 ⁻⁵

Gène	Nom du gène	RT	P-valeur
Klhl25	kelch-like family member 25	0,69	5,00.10 ⁻⁵
L3hypdh	trans-L-3-hydroxyproline déshydratase	1,46	8,50.10 ⁻⁴
LOC100134871	beta globin minor gene	1,73	5,00.10 ⁻⁵
LOC100362027	ribosomal protein L30-like	0,27	5,00.10 ⁻⁵
LOC100362104	mitochondrial ribosomal protein L30	inf	5,00.10 ⁻⁵
LOC100910877	cytochrome P450 3A1-like	0,16	5,00.10 ⁻⁵
LOC102553917	putative zinc finger protein 724-like	0,54	5,00.10 ⁻⁵
LOC102554194	zinc finger protein 709-like	0,54	1,50.10 ⁻⁴
LOC102555634	interferon-inducible GTPase 1-like	1,84	5,00.10 ⁻⁵
LOC102555850	60S ribosomal protein L10-like	0,63	5,00.10 ⁻⁵
LOC103689983	hypoxanthine-guanine phosphoribosyltransferase	-inf	5,00.10 ⁻⁵
LOC103690095	protein TFG-like	inf	5,00.10 ⁻⁵
LOC103690099	proteasome subunit beta type-8-like	inf	5,00.10 ⁻⁵
LOC103690108	class I histocompatibility antigen, Non-RT1.A alpha-1 chain-like	1,32	6,00.10 ⁻⁴
LOC103694328	alanine and glycine-rich protein-like	0,74	1,50.10 ⁻⁴
LOC108349217	60S ribosomal protein L19 pseudogene	2,03	5,50.10 ⁻⁴
LOC108353237	class I histocompatibility antigen, Non-RT1.A alpha-1 chain-like	0,58	1,50.10 ⁻⁴
LOC298111	alpha2u globulin	30,34	5,00.10 ⁻⁵
LOC307495	similar to biliverdin reductase B (flavin reductase (NADPH))	0,56	5,00.10 ⁻⁵
LOC367746	similar to Spindlin-like protein 2 (SPIN-2)	0,04	5,00.10 ⁻⁵
LOC500300	-	1,52	5,00.10 ⁻⁵
LOC680200	similar to zinc finger protein 455	0,54	5,00.10 ⁻⁵
LOC685067	similar to guanylate binding protein family, member 6	0,54	5,00.10 ⁻⁵
LOC688489	similar to alpha2u globulin	8,12	5,00.10 ⁻⁵
LOC688530	similar to esterase D/formylglutathione hydrolase	2,19	5,00.10 ⁻⁵
LOC691170	similar to zinc finger protein 84 (HPF2)	1,35	3,50.10 ⁻⁴
Mab21l3	mab-21 like 3	0,72	4,00.10 ⁻⁴
Mad2l1bp	MAD2L1 binding protein	0,67	2,50.10 ⁻⁴
Mafb	MAF bZIP transcription factor B	0,57	5,00.10 ⁻⁵
Mme	membrane metallo-endopeptidase	0,63	5,00.10 ⁻⁵
Mocos	molybdenum cofactor sulfurase	0,51	5,00.10 ⁻⁵
Mpzl2	myelin protein zero-like 2	0,63	5,50.10 ⁻⁴
Msln	mesothelin	0,49	5,00.10 ⁻⁵
Msrb1	methionine sulfoxide reductase B1	1,71	5,00.10 ⁻⁵
Mst1r	macrophage stimulating 1 receptor	0,37	5,00.10 ⁻⁵
Myh14	myosin heavy chain 14	3,90	5,00.10 ⁻⁵
Nedd9	neural precursor cell expressed, developmentally down-regulated 9	0,56	5,00.10 ⁻⁵
Net1	neuroepithelial cell transforming 1	0,72	5,00.10 ⁻⁵

groupe LD

Gène	Nom du gène	RT	P-valeur
Nim1k	NIM1 serine/threonine protein kinase	0,67	5,00.10 ⁻⁵
Nr0b2	nuclear receptor subfamily 0, group B, member 2	1,70	5,00.10 ⁻⁵
Nudt12	nudix hydrolase 12	1,32	8,00.10 ⁻⁴
Nudt19	nudix hydrolase 19	0,71	1,50.10 ⁻⁴
Olr59	olfactory receptor 59	0,73	7,00.10 ⁻⁴
Pcdh18	protocadherin 18	1,39	9,00.10 ⁻⁴
Pde4b	phosphodiesterase 4B	1,53	1,00.10 ⁻⁴
Pdia5	protein disulfide isomerase family A, member 5	1,32	7,50.10 ⁻⁴
Pdzrn3	PDZ domain containing RING finger 3	0,72	1,00.10 ⁻⁴
Pex5	peroxisomal biogenesis factor 5	0,66	8,50.10 ⁻⁴
Ppp1r10	protein phosphatase 1, regulatory subunit 10	0,72	2,50.10 ⁻⁴
Ppp2ca	protein phosphatase 2 catalytic subunit alpha	1,52	3,00.10 ⁻⁴
Prickle1	prickle planar cell polarity protein 1	1,83	5,00.10 ⁻⁵
Prkab1	protein kinase AMP-activated non-catalytic subunit beta 1	0,71	5,00.10 ⁻⁵
Prlr	prolactin receptor	1,88	5,00.10 ⁻⁵
Prph	peripherin	0,52	9,50.10 ⁻⁴
Ptgr	prostaglandin F receptor	1,45	3,00.10 ⁻⁴
Ptgr1	prostaglandin reductase 1	1,58	5,00.10 ⁻⁵
Rad54l2	RAD54 like 2	0,46	5,00.10 ⁻⁵
Raph1	Ras association (RalGDS/AF-6) and pleckstrin homology domains 1	1,32	5,00.10 ⁻⁴
Rcan1	regulator of calcineurin 1	0,55	5,00.10 ⁻⁵
Rdh16	retinol dehydrogenase 16	0,71	1,00.10 ⁻⁴
RGD1305733	-	0,51	5,00.10 ⁻⁵
RGD1307603	similar to hypothetical protein MGC37914	1,42	5,00.10 ⁻⁵
RGD1309621	-	0,69	5,00.10 ⁻⁵
RGD1309821	-	0,76	8,00.10 ⁻⁴
RGD1310209	-	0,63	5,00.10 ⁻⁵
RGD1561849	-	0,61	5,00.10 ⁻⁵
Rgs16	regulator of G-protein signaling 16	2,90	5,00.10 ⁻⁵
Rgs3	regulator of G-protein signaling 3	0,55	5,00.10 ⁻⁵
Rhob	ras homolog family member B	0,74	7,50.10 ⁻⁴
Rhpn2	rhophilin, Rho GTPase binding protein 2	1,52	1,50.10 ⁻⁴
Rin2	Ras and Rab interactor 2	1,58	5,00.10 ⁻⁵
Rnf186	ring finger protein 186	1,97	2,50.10 ⁻⁴
Rpl10l	ribosomal protein L10-like	0,58	1,00.10 ⁻⁴
Rrs1	ribosome biogenesis regulator 1 homolog	0,73	1,50.10 ⁻⁴
RT1-N2	RT1 class Ib, locus N2	2,20	5,00.10 ⁻⁵
Rtn4rl2	reticulum 4 receptor-like 2	0,44	5,00.10 ⁻⁵

Gène	Nom du gène	RT	P-valeur
Rtp3	receptor (chemosensory) transporter protein 3	0,61	5,00.10 ⁻⁵
Rusc2	RUN and SH3 domain containing 2	1,65	5,00.10 ⁻⁵
S1pr2	sphingosine-1-phosphate receptor 2	0,54	5,00.10 ⁻⁵
Sall1	spalt-like transcription factor 1	1,76	5,00.10 ⁻⁵
Sccpdh	saccharopine dehydrogenase (putative)	0,04	5,00.10 ⁻⁵
Sds	serine dehydratase	1,44	1,50.10 ⁻⁴
Sertad1	SERTA domain containing 1	0,64	1,50.10 ⁻⁴
Skil	SKI-like proto-oncogene	0,69	5,00.10 ⁻⁵
Slc13a5	solute carrier family 13 member 5	1,65	4,00.10 ⁻⁴
Slc25a30	solute carrier family 25, member 30	0,27	5,00.10 ⁻⁵
Slc28a2	solute carrier family 28 member 2	1,33	6,00.10 ⁻⁴
Slc2a12	solute carrier family 2 member 12	0,62	5,00.10 ⁻⁵
Slc2a9	solute carrier family 2 member 9	0,77	1,05.10 ⁻³
Slc30a3	solute carrier family 30 member 3	2,24	1,50.10 ⁻⁴
Slc35c2	solute carrier family 35 member C2	0,59	5,00.10 ⁻⁵
Snai2	snail family transcriptional repressor 2	1,98	1,50.10 ⁻⁴
Socs2	suppressor of cytokine signaling 2	0,25	5,00.10 ⁻⁵
Sqrdl	-	1,42	5,00.10 ⁻⁵
Srsf3	serine and arginine rich splicing factor 3	0,76	1,00.10 ⁻³
St6galnac4	ST6 N-acetylgalactosaminide alpha-2,6-sialyltransferase 4	0,70	5,00.10 ⁻⁵
Sult2a1	sulfotransferase family 2A member 1	1,54	2,00.10 ⁻⁴
Svil	supervillin	0,72	1,00.10 ⁻⁴
Tec	tec protein tyrosine kinase	1,33	3,00.10 ⁻⁴
Thbs1	thrombospondin 1	2,05	5,00.10 ⁻⁵
Tmcc2	transmembrane and coiled-coil domain family 2	1,67	5,00.10 ⁻⁴
Tmem30b	transmembrane protein 30B	1,65	5,00.10 ⁻⁵
Trak1	trafficking kinesin protein 1	0,74	6,50.10 ⁻⁴
Trib1	tribbles pseudokinase 1	0,59	5,00.10 ⁻⁵
Trib3	tribbles pseudokinase 3	0,56	5,00.10 ⁻⁵
Trim8	tripartite motif-containing 8	0,75	6,00.10 ⁻⁴
Tsku	tsukushi, small leucine rich proteoglycan	0,70	5,00.10 ⁻⁴
Ubd	ubiquitin D	2,11	5,00.10 ⁻⁵
Ugt2a3	UDP glucuronosyltransferase family 2 member A3	0,68	5,00.10 ⁻⁵
Usp18	ubiquitin specific peptidase 18	0,65	5,00.10 ⁻⁵
UST4r	integral membrane transport protein UST4r	2,12	5,00.10 ⁻⁵
Vegfa	vascular endothelial growth factor A	1,33	4,50.10 ⁻⁴
Vgll4	vestigial-like family member 4	0,42	5,00.10 ⁻⁵
Vps37b	VPS37B subunit of ESCRT-I	0,70	1,50.10 ⁻⁴

groupe LD

Gène	Nom du gène	RT	P-valeur
Xbp1	X-box binding protein 1	0,64	5,00.10 ⁻⁵
Zbtb16	zinc finger and BTB domain containing 16	1,78	5,00.10 ⁻⁵
Zfand2a	zinc finger AN1-type containing 2A	0,65	5,00.10 ⁻⁵
Zfc3h1	zinc finger, C3H1-type containing	1,38	5,00.10 ⁻⁵
Zfp189	zinc finger protein 189	1,44	1,00.10 ⁻⁴
Zfp36	zinc finger protein 36	0,76	4,50.10 ⁻⁴
Zfp422	zinc finger protein 422	1,39	1,00.10 ⁻⁴
Zfp467	zinc finger protein 467	0,70	5,00.10 ⁻⁵
Zfp821	zinc finger protein 821	0,47	5,00.10 ⁻⁵
Zpbp2	zona pellucida binding protein 2	1,82	7,50.10 ⁻⁴

Annexe 4 - Gènes hépatiques différentiellement transcrits pour les mâles F1 du groupe HD

Gène	Nom du gène	RT	P-valeur
Abca8	ATP binding cassette subfamily A member 8	1,35	7,50.10 ⁻⁴
Abca8a	ATP-binding cassette, subfamily A (ABC1), member 8a	1,52	5,00.10 ⁻⁵
Abca9	ATP binding cassette subfamily A member 9	1,56	5,00.10 ⁻⁵
Abcc6	ATP binding cassette subfamily C member 6	1,39	5,00.10 ⁻⁵
Abcc9	ATP binding cassette subfamily C member 9	0,68	5,00.10 ⁻⁵
Abcg8	ATP binding cassette subfamily G member 8	0,57	5,00.10 ⁻⁵
Abhd2	abhydrolase domain containing 2, acylglycerol lipase	0,76	1,45.10 ⁻³
Acaa1b	acetyl-Coenzyme A acyltransferase 1B	0,73	6,50.10 ⁻⁴
Acot1	acyl-CoA thioesterase 1	0,52	5,00.10 ⁻⁵
Acot5	acyl-CoA thioesterase 5	0,69	2,00.10 ⁻⁴
Acsf2	acyl-CoA synthetase family member 2	0,62	5,00.10 ⁻⁵
Adam11	ADAM metallopeptidase domain 11	1,94	5,00.10 ⁻⁵
Adam15	ADAM metallopeptidase domain 15	1,49	5,00.10 ⁻⁵
Adamts10	ADAM metallopeptidase with thrombospondin type 1 motif, 10	1,45	2,50.10 ⁻⁴
Adcy10	adenylate cyclase 10	0,68	5,50.10 ⁻⁴
Adh4	alcohol dehydrogenase 4 (class II), pi polypeptide	1,68	5,00.10 ⁻⁵
Adh7	alcohol dehydrogenase 7 (class IV), mu or sigma polypeptide	0,68	5,00.10 ⁻⁵
Agxt2	alanine-glyoxylate aminotransferase 2	1,40	5,00.10 ⁻⁵
Ahr	aryl hydrocarbon receptor	1,30	1,50.10 ⁻³
Akap8	A-kinase anchoring protein 8	1,34	4,00.10 ⁻⁴
Akap8l	A-kinase anchoring protein 8 like	1,60	5,00.10 ⁻⁵
Akr1c12	aldo-keto reductase family 1, member C12	1,43	1,00.10 ⁻⁴
Akr1c19	aldo-keto reductase family 1, member C19	1,73	5,00.10 ⁻⁵
Aldh1b1	aldehyde dehydrogenase 1 family, member B1	0,56	1,00.10 ⁻⁴
Als2cl	ALS2 C-terminal like	1,45	5,00.10 ⁻⁵
Amhr2	anti-Mullerian hormone receptor type 2	0,36	1,20.10 ⁻³
Aox2	aldehyde oxidase 2	1,32	1,35.10 ⁻³
Apof	apolipoprotein F	1,73	5,00.10 ⁻⁵
Apol3	apolipoprotein L, 3	0,73	5,00.10 ⁻⁵
Apol9a	apolipoprotein L 9a	0,74	1,50.10 ⁻⁴
Arrdc3	arrestin domain containing 3	1,41	2,00.10 ⁻⁴

Gène	Nom du gène	RT	P-valeur
Atp2b2	ATPase plasma membrane Ca ²⁺ transporting 2	0,64	5,00.10 ⁻⁵
Aurkc	aurora kinase C	2,03	1,05.10 ⁻³
Bcl6	BCL6, transcription repressor	3,90	5,00.10 ⁻⁵
Bco1	beta-carotene oxygenase 1	0,25	5,00.10 ⁻⁵
Bhlhe40	basic helix-loop-helix family, member e40	0,49	5,00.10 ⁻⁵
Cbx6	chromobox 6	0,66	1,00.10 ⁻³
Ccdc39	coiled-coil domain containing 39	1,50	5,00.10 ⁻⁴
Ccdc62	coiled-coil domain containing 62	1,92	1,50.10 ⁻⁴
Ccdc9	coiled-coil domain containing 9	1,34	3,50.10 ⁻⁴
Ccl21	C-C motif chemokine ligand 21	2,09	5,00.10 ⁻⁵
Ccl22	C-C motif chemokine ligand 22	0,43	5,00.10 ⁻⁵
Ccnf	cyclin F	0,53	5,00.10 ⁻⁵
Ccnl1	cyclin L1	1,43	4,00.10 ⁻⁴
Ccnl2	cyclin L2	1,83	5,00.10 ⁻⁵
Ccnt2	cyclin T2	1,48	5,00.10 ⁻⁵
Cd300lf	Cd300 molecule-like family member F	1,44	8,00.10 ⁻⁴
Cd5l	Cd5 molecule-like	1,36	1,00.10 ⁻⁴
Cd63	Cd63 molecule	1,31	6,00.10 ⁻⁴
Cdh17	cadherin 17	0,66	5,00.10 ⁻⁵
Cep170	centrosomal protein 170	1,47	5,00.10 ⁻⁵
Cfap126	cilia and flagella associated protein 126	1,42	3,50.10 ⁻⁴
Chchd10	coiled-coil-helix-coiled-coil-helix domain containing 10	83,29	5,00.10 ⁻⁵
Chrd	chordin	1,47	5,00.10 ⁻⁵
Chrnbl	cholinergic receptor nicotinic beta 1 subunit	0,46	1,50.10 ⁻⁴
Cidea	cell death-inducing DFFA-like effector a	1,60	5,00.10 ⁻⁵
Cish	cytokine inducible SH2-containing protein	0,58	5,00.10 ⁻⁵
Cited2	Cbp/p300-interacting transactivator 2	1,30	8,00.10 ⁻⁴
Ckap4	cytoskeleton-associated protein 4	2,53	5,00.10 ⁻⁵
Clcf1	cardiotrophin-like cytokine factor 1	1,98	1,00.10 ⁻⁴
Clic2	chloride intracellular channel 2	1,76	5,00.10 ⁻⁵
Clk1	CDC-like kinase 1	1,53	5,00.10 ⁻⁵
Clk2	CDC-like kinase 2	1,38	6,00.10 ⁻⁴
Clk4	CDC-like kinase 4	1,47	2,00.10 ⁻⁴
Clybl	citramalyl-CoA lyase	1,62	2,50.10 ⁻⁴
Col27a1	collagen type XXVII alpha 1 chain	1,53	5,00.10 ⁻⁵
Cpeb2	cytoplasmic polyadenylation element binding protein 2	1,35	5,00.10 ⁻⁵
Csmd1	CUB and Sushi multiple domains 1	0,60	5,00.10 ⁻⁵
Ctcf1	CCCTC-binding factor like	0,32	5,00.10 ⁻⁵

Gène	Nom du gène	RT	P-valeur
Cttna1	catenin alpha-like 1	1,33	1,25.10 ⁻³
Cyfip2	cytoplasmic FMR1 interacting protein 2	0,42	5,00.10 ⁻⁵
Cyp2b1	cytochrome P450, family 2, subfamily b, polypeptide 1	1,33	4,50.10 ⁻⁴
Cyp2c12	cytochrome P450, family 2, subfamily c, polypeptide 12	1,47	6,50.10 ⁻⁴
Cyp3a23/3a1	-	0,09	5,00.10 ⁻⁵
Cyp3a73	cytochrome P450, family 3, subfamily a, polypeptide 73	1,70	5,00.10 ⁻⁵
Cyp4a8	cytochrome P450, family 4, subfamily a, polypeptide 8	0,62	1,50.10 ⁻⁴
Dab1	DAB adaptor protein 1	0,72	8,00.10 ⁻⁴
Dbp	D-box binding PAR bZIP transcription factor	1,52	5,00.10 ⁻⁵
Dcn	decorin	0,53	5,00.10 ⁻⁵
Ddx17	DEAD-box helicase 17	1,41	5,00.10 ⁻⁵
Dhcr24	24-dehydrocholesterol reductase	0,75	3,50.10 ⁻⁴
Dixdc1	DIX domain containing 1	1,46	5,00.10 ⁻⁵
Dmbt1-2	-	1,78	5,00.10 ⁻⁵
Dmtn	dematin actin binding protein	1,61	5,00.10 ⁻⁵
Dmxl2	Dmx-like 2	0,75	1,50.10 ⁻⁴
Dnmbp	dynamamin binding protein	1,32	1,05.10 ⁻³
Dock11	dedicator of cytokinesis 11	0,73	1,50.10 ⁻³
Dstnl1	destrin-like 1	1,94	5,00.10 ⁻⁵
Dusp1	dual specificity phosphatase 1	0,50	5,00.10 ⁻⁵
Dysf	dysferlin	1,54	4,00.10 ⁻⁴
Dzf17	-	1,49	1,00.10 ⁻⁴
Echdc1	ethylmalonyl-CoA decarboxylase 1	1,37	1,25.10 ⁻³
Edar	ectodysplasin-A receptor	1,40	6,50.10 ⁻⁴
Ehhadh	enoyl-CoA hydratase and 3-hydroxyacyl CoA dehydrogenase	0,66	5,00.10 ⁻⁵
Elmod3	ELMO domain containing 3	1,50	5,00.10 ⁻⁴
Eml5	EMAP like 5	1,44	1,00.10 ⁻⁴
Enpp5	ectonucleotide pyrophosphatase/phosphodiesterase family member 5	1,47	9,00.10 ⁻⁴
Ephb6	Eph receptor B6	0,66	5,00.10 ⁻⁵
Epm2aip1	EPM2A interacting protein 1	1,43	5,00.10 ⁻⁵
Ermard	ER membrane-associated RNA degradation	1,41	5,00.10 ⁻⁵
Etv3	ETS variant transcription factor 3	1,47	5,00.10 ⁻⁵
F8	coagulation factor VIII	1,59	5,00.10 ⁻⁵
Fabp4	fatty acid binding protein 4	1,98	1,10.10 ⁻³
Fam169b	family with sequence similarity 169, member B	3,40	5,00.10 ⁻⁵
Fam193b	family with sequence similarity 193, member B	1,65	5,00.10 ⁻⁵
Fam76b	family with sequence similarity 76, member B	1,65	1,40.10 ⁻³
Fam89a	family with sequence similarity 89, member A	0,73	2,50.10 ⁻⁴

Gène	Nom du gène	RT	P-valeur
Fdps	farnesyl diphosphate synthase	0,74	2,50.10 ⁻⁴
Fgf21	fibroblast growth factor 21	0,58	1,50.10 ⁻⁴
Fnbp4	formin binding protein 4	1,53	5,00.10 ⁻⁵
Foxo3	forkhead box O3	0,62	5,00.10 ⁻⁵
Frmd4b	FERM domain containing 4B	1,41	1,00.10 ⁻⁴
Gadd45g	growth arrest and DNA-damage-inducible, gamma	0,53	5,00.10 ⁻⁵
Gatm	glycine amidinotransferase	1,40	7,00.10 ⁻⁴
Gbas	-	1,65	4,00.10 ⁻⁴
Gck	glucokinase	0,46	5,00.10 ⁻⁵
Gigyf1	GRB10 interacting GYF protein 1	1,34	4,50.10 ⁻⁴
Gimd1	GIMAP family P-loop NTPase domain containing 1	0,52	5,00.10 ⁻⁵
Git2	GIT ArfGAP 2	1,37	4,00.10 ⁻⁴
Gsta2	glutathione S-transferase alpha 2	1,92	5,00.10 ⁻⁵
Hdc	histidine decarboxylase	0,54	5,00.10 ⁻⁵
Hmgcr	3-hydroxy-3-methylglutaryl-CoA reductase	0,74	3,00.10 ⁻⁴
Hmgn1	high mobility group nucleosome binding domain 1	0,59	1,00.10 ⁻⁴
Hnrnp1	heterogeneous nuclear ribonucleoprotein H1	1,30	6,00.10 ⁻⁴
Hpse	heparanase	1,66	5,00.10 ⁻⁵
Hrasls	-	1,88	5,00.10 ⁻⁵
Hs3st3b1	heparan sulfate-glucosamine 3-sulfotransferase 3B1	0,64	5,00.10 ⁻⁵
Hsd17b6	hydroxysteroid (17-beta) dehydrogenase 6	0,64	5,00.10 ⁻⁵
Hsp90aa1	heat shock protein 90 alpha family class A member 1	0,42	5,00.10 ⁻⁵
Ier2	immediate early response 2	0,66	5,00.10 ⁻⁵
Il1a	interleukin 1 alpha	1,63	5,00.10 ⁻⁵
Inf2	inverted formin 2	0,64	5,00.10 ⁻⁵
Inhbc	inhibin subunit beta C	0,78	1,35.10 ⁻³
Insig1	insulin induced gene 1	0,63	5,00.10 ⁻⁵
Irf2bpl	interferon regulatory factor 2 binding protein-like	0,71	1,00.10 ⁻⁴
Irf7	interferon regulatory factor 7	0,69	5,00.10 ⁻⁵
Irgm	immunity-related GTPase M	0,71	5,00.10 ⁻⁵
Isg15	ISG15 ubiquitin-like modifier	0,64	7,00.10 ⁻⁴
Jade1	jade family PHD finger 1	1,40	5,00.10 ⁻⁵
Jrkl	JRK-like	1,50	6,00.10 ⁻⁴
Katnal2	katanin catalytic subunit A1 like 2	0,42	5,00.10 ⁻⁵
Kcnk5	potassium two pore domain channel subfamily K member 5	1,46	2,00.10 ⁻⁴
Kifc3	kinesin family member C3	1,46	1,35.10 ⁻³
Klf9	Kruppel-like factor 9	0,76	7,00.10 ⁻⁴
Lamb3	laminin subunit beta 3	0,61	3,00.10 ⁻⁴

Gène	Nom du gène	RT	P-valeur
Lcn12	lipocalin 12	1,42	1,50.10 ⁻⁴
Ldlrad1	low density lipoprotein receptor class A domain containing 1	2,01	5,00.10 ⁻⁵
Leng8	leukocyte receptor cluster member 8	1,56	5,00.10 ⁻⁵
LOC100360380	zinc finger protein 457-like	1,46	2,00.10 ⁻⁴
LOC100360645	ubiquitin B-like	0,45	5,00.10 ⁻⁵
LOC100362027	ribosomal protein L30-like	0,30	5,00.10 ⁻⁵
LOC100362069	ribosomal protein L28-like	0,72	4,00.10 ⁻⁴
LOC100363520	mCG16729-like	2,07	5,00.10 ⁻⁵
LOC100909561	nuclease-sensitive element-binding protein 1-like	3,25	5,00.10 ⁻⁵
LOC100910877	cytochrome P450 3A1-like	0,08	5,00.10 ⁻⁵
LOC100911372	40S ribosomal protein S6-like	0,03	5,00.10 ⁻⁵
LOC100911879	cytochrome P450 2C29-like	2,40	5,00.10 ⁻⁵
LOC100912604	spermidine synthase-like	7,02	5,00.10 ⁻⁴
LOC102546572	zinc finger protein 709-like	1,29	8,50.10 ⁻⁴
LOC102548389	zinc finger protein 709-like	1,57	5,00.10 ⁻⁵
LOC102551257	zinc finger protein 709-like	1,53	1,45.10 ⁻³
LOC102552404	butyrophilin-like protein 10-like	1,65	1,15.10 ⁻³
LOC102552823	zinc finger protein 709-like	1,58	3,00.10 ⁻⁴
LOC102554200	zinc finger protein 271-like	1,43	1,00.10 ⁻⁴
LOC103689992	-	23,79	1,00.10 ⁻⁴
LOC103690063	ATP-binding cassette sub-family G member 3-like	1,97	5,00.10 ⁻⁵
LOC103690099	proteasome subunit beta type-8-like	inf	5,00.10 ⁻⁵
LOC103691085	60S ribosomal protein L34 pseudogene	1,86	5,00.10 ⁻⁴
LOC103694328	alanine and glycine-rich protein-like	0,76	6,00.10 ⁻⁴
LOC108348302	zinc finger protein 709-like	1,64	7,00.10 ⁻⁴
LOC108353237	class I histocompatibility antigen, Non-RT1.A alpha-1 chain-like	0,09	5,00.10 ⁻⁵
LOC298111	alpha2u globulin	0,68	9,00.10 ⁻⁴
LOC303140	up-regulator of carnitine transporter, OCTN2	2,65	5,00.10 ⁻⁵
LOC367746	similar to Spindlin-like protein 2 (SPIN-2)	0,40	5,00.10 ⁻⁵
LOC501038	Ab2-060	0,71	3,00.10 ⁻⁴
LOC678760	similar to Dipeptidyl-peptidase 3	0,65	5,00.10 ⁻⁵
LOC685067	similar to guanylate binding protein family, member 6	0,54	5,00.10 ⁻⁵
LOC688489	similar to alpha2u globulin	2,43	5,00.10 ⁻⁵
LOC691170	similar to zinc finger protein 84 (HPF2)	1,29	1,20.10 ⁻³
Lpar6	lysophosphatidic acid receptor 6	1,55	9,50.10 ⁻⁴
Luc7l2	LUC7-like 2 pre-mRNA splicing factor	1,45	1,00.10 ⁻⁴
Lyve1	lymphatic vessel endothelial hyaluronan receptor 1	1,29	1,35.10 ⁻³
Mafb	MAF bZIP transcription factor B	0,64	5,00.10 ⁻⁵

Gène	Nom du gène	RT	P-valeur
Mapk8ip3	mitogen-activated protein kinase 8 interacting protein 3	1,45	1,00.10 ⁻⁴
Mcrip2	MAPK regulated co-repressor interacting protein 2	0,73	3,50.10 ⁻⁴
Mdm4	MDM4 regulator of p53	1,45	5,00.10 ⁻⁵
MGC108823	similar to interferon-inducible GTPase	0,69	1,55.10 ⁻³
Mlxip1	MLX interacting protein-like	1,49	5,00.10 ⁻⁵
Mmd2	monocyte to macrophage differentiation-associated 2	0,45	5,00.10 ⁻⁵
Morc3	MORC family CW-type zinc finger 3	1,42	5,00.10 ⁻⁵
Mrc1	mannose receptor, C type 1	1,33	3,50.10 ⁻⁴
Msantd2	Myb/SANT DNA binding domain containing 2	1,49	2,00.10 ⁻⁴
Mst1r	macrophage stimulating 1 receptor	0,40	5,00.10 ⁻⁵
Mtfr2	mitochondrial fission regulator 2	2,07	9,50.10 ⁻⁴
Mybl1	MYB proto-oncogene like 1	1,90	5,00.10 ⁻⁵
Myh14	myosin heavy chain 14	2,74	5,00.10 ⁻⁵
Mylip	myosin regulatory light chain interacting protein	1,58	7,50.10 ⁻⁴
Nae1	NEDD8 activating enzyme E1 subunit 1	1,35	1,10.10 ⁻³
Nampt	nicotinamide phosphoribosyltransferase	0,66	5,00.10 ⁻⁵
Ncald	neurocalcin delta	1,45	3,50.10 ⁻⁴
Nectin2	nectin cell adhesion molecule 2	0,73	5,00.10 ⁻⁵
Nfat5	nuclear factor of activated T-cells 5	1,50	5,00.10 ⁻⁵
Nktr	natural killer cell triggering receptor	1,32	3,50.10 ⁻⁴
Nqo1	NAD(P)H quinone dehydrogenase 1	1,87	5,00.10 ⁻⁵
Nr1d2	nuclear receptor subfamily 1, group D, member 2	1,31	5,00.10 ⁻⁴
Nr1i3	nuclear receptor subfamily 1, group I, member 3	1,48	5,00.10 ⁻⁵
Nr4a1	nuclear receptor subfamily 4, group A, member 1	1,68	2,00.10 ⁻⁴
Nrbp2	nuclear receptor binding protein 2	1,42	5,00.10 ⁻⁵
Nudt19	nudix hydrolase 19	0,75	1,20.10 ⁻³
Nxf1	nuclear RNA export factor 1	1,49	5,00.10 ⁻⁵
Ogt	O-linked N-acetylglucosamine (GlcNAc) transferase	1,57	5,00.10 ⁻⁵
Olr35	olfactory receptor 35	1,96	2,50.10 ⁻⁴
Orai1	ORAI calcium release-activated calcium modulator 1	0,75	1,30.10 ⁻³
Orc2	origin recognition complex, subunit 2	1,36	1,25.10 ⁻³
Pabpn1	poly(A) binding protein, nuclear 1	1,33	3,00.10 ⁻⁴
Paqr9	progesterin and adipoQ receptor family member 9	0,68	5,00.10 ⁻⁵
Paxbp1	PAX3 and PAX7 binding protein 1	1,39	1,00.10 ⁻⁴
Pfkfb1	6-phosphofructo-2-kinase/fructose-2,6-biphosphatase 1	0,72	7,50.10 ⁻⁴
Phlda3	pleckstrin homology-like domain, family A, member 3	0,73	5,00.10 ⁻⁵
Plcx2	phosphatidylinositol-specific phospholipase C, X domain containing 2	1,39	9,50.10 ⁻⁴
Plekhg5	pleckstrin homology and RhoGEF domain containing G5	1,33	1,30.10 ⁻³

Gène	Nom du gène	RT	P-valeur
Pnlsr	PNN interacting serine and arginine rich protein	1,81	5,00.10 ⁻⁵
Pnn	pinin, desmosome associated protein	1,64	5,00.10 ⁻⁵
Pop5	POP5 homolog, ribonuclease P/MRP subunit	0,73	7,50.10 ⁻⁴
Ppm1k	protein phosphatase, Mg2+/Mn2+ dependent, 1K	1,42	5,00.10 ⁻⁵
Ppp2ca	protein phosphatase 2 catalytic subunit alpha	1,57	2,50.10 ⁻⁴
Ppp2r2b	protein phosphatase 2, regulatory subunit B, beta	0,42	5,00.10 ⁻⁵
Prickle4	prickle planar cell polarity protein 4	1,67	4,00.10 ⁻⁴
Prlr	prolactin receptor	0,56	5,00.10 ⁻⁵
Prpf39	pre-mRNA processing factor 39	1,40	5,00.10 ⁻⁵
Prpf40b	pre-mRNA processing factor 40 homolog B	1,36	1,20.10 ⁻³
Prpf4b	pre-mRNA processing factor 4B	1,40	5,00.10 ⁻⁵
Prss36	serine protease 36	1,60	9,50.10 ⁻⁴
Ptgis	prostaglandin I2 synthase	0,51	8,50.10 ⁻⁴
Ptprh	protein tyrosine phosphatase, receptor type, H	2,18	5,00.10 ⁻⁵
Raph1	Ras association (RalGDS/AF-6) and pleckstrin homology domains 1	1,34	2,50.10 ⁻⁴
Rasd1	ras related dexamethasone induced 1	1,49	1,30.10 ⁻³
Rcan1	regulator of calcineurin 1	0,72	1,50.10 ⁻⁴
Retsat	retinol saturase	0,51	5,00.10 ⁻⁵
Rev1	REV1, DNA directed polymerase	1,36	1,35.10 ⁻³
Rex2	reduced expression 2	1,45	2,50.10 ⁻⁴
Rfx7	regulatory factor X, 7	1,38	1,00.10 ⁻⁴
RGD1305733	-	0,58	1,50.10 ⁻⁴
RGD1307603	similar to hypothetical protein MGC37914	1,33	3,00.10 ⁻⁴
RGD1560556	-	1,83	5,00.10 ⁻⁵
RGD1560784	similar to RIKEN cDNA B630019K06	0,35	1,50.10 ⁻⁴
RGD1561277	RGD1561277	1,77	5,00.10 ⁻⁵
Rgs3	regulator of G-protein signaling 3	0,65	5,00.10 ⁻⁵
Rhobtb3	Rho-related BTB domain containing 3	1,34	4,50.10 ⁻⁴
Rhof	ras homolog family member F, filopodia associated	0,65	5,00.10 ⁻⁵
Rin2	Ras and Rab interactor 2	1,39	2,50.10 ⁻⁴
Rnf14	ring finger protein 14	1,37	5,00.10 ⁻⁵
Rnpc3	RNA-binding region (RNP1, RRM) containing 3	1,80	1,00.10 ⁻⁴
Rpl10l	ribosomal protein L10-like	0,61	5,00.10 ⁻⁵
Rpp21	ribonuclease P/MRP subunit p21	0,75	2,00.10 ⁻⁴
RT1-A1	RT1 class Ia, locus A1	0,29	5,00.10 ⁻⁵
RT1-A2	RT1 class Ia, locus A2	0,63	5,00.10 ⁻⁵
RT1-Bb	RT1 class II, locus Bb	0,60	5,00.10 ⁻⁵
RT1-CE10	RT1 class I, locus CE10	0,72	3,00.10 ⁻⁴

Gène	Nom du gène	RT	P-valeur
RT1-CE2	RT1 class I, locus CE2	0,54	5,00.10 ⁻⁵
RT1-N2	RT1 class Ib, locus N2	3,68	5,00.10 ⁻⁵
RT1-N3	RT1 class Ib, locus N3	1,78	5,00.10 ⁻⁵
RT1-S3	RT1 class Ib, locus S3	0,75	3,00.10 ⁻⁴
Rtn4rl2	reticulon 4 receptor-like 2	0,39	5,00.10 ⁻⁵
Rusc1	RUN and SH3 domain containing 1	0,74	1,45.10 ⁻³
Rusc2	RUN and SH3 domain containing 2	1,51	5,00.10 ⁻⁵
Sarm1	sterile alpha and TIR motif containing 1	0,57	8,50.10 ⁻⁴
Sccpdh	saccharopine dehydrogenase (putative)	0,04	5,00.10 ⁻⁵
Scn1b	sodium voltage-gated channel beta subunit 1	0,73	4,00.10 ⁻⁴
Sds	serine dehydratase	1,44	5,00.10 ⁻⁵
Serpina5	serpin family A member 5	1,41	1,50.10 ⁻⁴
Sgk1	serum/glucocorticoid regulated kinase 1	1,72	5,00.10 ⁻⁵
Slc26a8	solute carrier family 26 member 8	0,62	5,00.10 ⁻⁵
Slc28a2	solute carrier family 28 member 2	1,31	1,25.10 ⁻³
Slc35c2	solute carrier family 35 member C2	0,68	5,00.10 ⁻⁵
Slfn4	schlafen family member 4	1,37	9,00.10 ⁻⁴
Snrnp48	small nuclear ribonucleoprotein U11/U12 subunit 48	1,46	4,00.10 ⁻⁴
Snrnp70	small nuclear ribonucleoprotein U1 subunit 70	1,55	5,00.10 ⁻⁵
Socs2	suppressor of cytokine signaling 2	0,62	1,50.10 ⁻³
Spag1	sperm associated antigen 1	1,60	7,00.10 ⁻⁴
Spag8	sperm associated antigen 8	2,87	1,50.10 ⁻⁴
Sqrdl	-	1,30	1,20.10 ⁻³
Srrm2	serine/arginine repetitive matrix 2	1,41	5,00.10 ⁻⁵
Srsf11	serine and arginine rich splicing factor 11	1,33	3,00.10 ⁻⁴
Srsf6	serine and arginine rich splicing factor 6	1,48	5,00.10 ⁻⁵
St3gal1	ST3 beta-galactoside alpha-2,3-sialyltransferase 1	0,71	5,00.10 ⁻⁵
St8sia1	ST8 alpha-N-acetyl-neuraminide alpha-2,8-sialyltransferase 1	0,48	5,00.10 ⁻⁵
Stab1	stabilin 1	1,37	5,50.10 ⁻⁴
Stab2	stabilin 2	1,34	9,00.10 ⁻⁴
Stx16	syntaxin 16	1,49	5,00.10 ⁻⁵
Tap1	transporter 1, ATP binding cassette subfamily B member	0,74	3,00.10 ⁻⁴
Tardbp	TAR DNA binding protein	1,31	1,45.10 ⁻³
Tbx10	T-box transcription factor 10	1,95	6,00.10 ⁻⁴
Tfrc	transferrin receptor	1,46	5,00.10 ⁻⁵
Thumpd3-as1	THUMPD3 antisense RNA 1	1,55	1,50.10 ⁻⁴
Tle2	TLE family member 2, transcriptional corepressor	1,49	5,00.10 ⁻⁵
Tm7sf2	transmembrane 7 superfamily member 2	0,73	1,00.10 ⁻⁴

Gène	Nom du gène	RT	P-valeur
Tmed3	transmembrane p24 trafficking protein 3	0,61	5,00.10 ⁻⁵
Tmem37	transmembrane protein 37	0,73	5,00.10 ⁻⁴
Tmem8a	-	0,72	1,40.10 ⁻³
Tmem9	transmembrane protein 9	1,93	5,00.10 ⁻⁵
Tnfrsf11a	TNF receptor superfamily member 11A	2,15	4,00.10 ⁻⁴
Tnfrsf25	TNF receptor superfamily member 25	2,16	1,00.10 ⁻⁴
Tpcn2	two pore segment channel 2	1,36	2,00.10 ⁻⁴
Tpi1	triosephosphate isomerase 1	1,80	2,00.10 ⁻⁴
Trmt13	tRNA methyltransferase 13 homolog	1,66	1,00.10 ⁻⁴
Tsc22d3	TSC22 domain family, member 3	0,75	8,00.10 ⁻⁴
Tsku	tsukushi, small leucine rich proteoglycan	0,59	5,00.10 ⁻⁵
Tubb2a	tubulin, beta 2A class IIa	0,58	6,00.10 ⁻⁴
Tysnd1	trypsin like peroxisomal matrix peptidase 1	0,79	1,35.10 ⁻³
Ubd	ubiquitin D	3,49	5,00.10 ⁻⁵
Ubn2	ubiquitin 2	1,33	7,00.10 ⁻⁴
Ugt2b1	-	1,48	5,00.10 ⁻⁵
Upk3b	uroplakin 3B	0,49	1,00.10 ⁻³
Usp18	ubiquitin specific peptidase 18	0,61	5,00.10 ⁻⁵
Usp2	ubiquitin specific peptidase 2	0,64	5,00.10 ⁻⁵
Vamp1	vesicle-associated membrane protein 1	1,90	5,00.10 ⁻⁵
Vegfa	vascular endothelial growth factor A	1,71	5,00.10 ⁻⁵
Vps45	vacuolar protein sorting 45 homolog	1,49	1,10.10 ⁻³
Wfdc21	WAP four-disulfide core domain 21	0,59	5,00.10 ⁻⁵
Wsb1	WD repeat and SOCS box-containing 1	1,32	5,50.10 ⁻⁴
XAF1	XIAP associated factor 1	0,70	1,35.10 ⁻³
Zcchc7	zinc finger CCHC-type containing 7	1,52	5,00.10 ⁻⁵
Zfc3h1	zinc finger, C3H1-type containing	1,43	5,00.10 ⁻⁵
Zfp292	zinc finger protein 292	1,33	4,00.10 ⁻⁴
Zfp386	zinc finger protein 386 (Kruppel-like)	1,50	5,00.10 ⁻⁵
Zfp513	zinc finger protein 513	1,31	1,20.10 ⁻³
Zfp612	zinc finger protein 612	1,39	5,00.10 ⁻⁵
Zfp69	zinc finger protein 69	1,35	8,50.10 ⁻⁴
Zfp758	zinc finger protein 758	1,54	5,00.10 ⁻⁵
Zfp780b	zinc finger protein 780B	1,57	1,00.10 ⁻⁴
Zfp821	zinc finger protein 821	0,63	4,00.10 ⁻⁴
Zfp958	zinc finger protein 958	1,97	5,00.10 ⁻⁵
Zmynd10	zinc finger, MYND-type containing 10	1,81	2,00.10 ⁻⁴
Zpbbp2	zona pellucida binding protein 2	1,79	9,00.10 ⁻⁴

Gène	Nom du gène	RT	P-valeur
Zranb2	zinc finger RANBP2-type containing 2	1,36	5,00.10 ⁻⁵
Zscan26	zinc finger and SCAN domain containing 26	1,55	5,00.10 ⁻⁵

Annexe 5 - Gènes hépatiques différentiellement transcrits pour les mâles F3 du groupe LD

Gène	Nom du gène	RT	P-valeur
A2ml1	alpha-2-macroglobulin-like 1	0,33	5,00.10 ⁻⁵
Aass	aminoadipate-semialdehyde synthase	0,65	5,00.10 ⁻⁵
Abcb1a	ATP binding cassette subfamily B member 1A	0,65	5,00.10 ⁻⁵
Abcc2	ATP binding cassette subfamily C member 2	0,71	4,50.10 ⁻⁴
Acaa1b	acetyl-Coenzyme A acyltransferase 1B	1,35	9,50.10 ⁻⁴
Acaa2	acetyl-CoA acyltransferase 2	1,51	3,50.10 ⁻⁴
Acnat1	acyl-coenzyme A amino acid N-acyltransferase 1	0,15	5,00.10 ⁻⁵
Acnat2	acyl-coenzyme A amino acid N-acyltransferase 2	2,18	5,00.10 ⁻⁵
Acot1	acyl-CoA thioesterase 1	1,86	5,00.10 ⁻⁵
Acot5	acyl-CoA thioesterase 5	0,68	1,00.10 ⁻⁴
Acsm2a	-	0,54	5,00.10 ⁻⁵
Adh7	alcohol dehydrogenase 7 (class IV), mu or sigma polypeptide	0,71	1,50.10 ⁻⁴
Adipoq	adiponectin, C1Q and collagen domain containing	-inf	5,00.10 ⁻⁵
Akap5	A-kinase anchoring protein 5	0,56	5,00.10 ⁻⁵
Akr1b8	aldo-keto reductase family 1, member B8	0,42	4,00.10 ⁻⁴
Akr1c1	aldo-keto reductase family 1, member C1	0,54	5,00.10 ⁻⁵
Akr1c2	aldo-keto reductase family 1, member C2	0,65	5,00.10 ⁻⁵
Alas1	5'-aminolevulinate synthase 1	1,73	5,00.10 ⁻⁵
Alpl	alkaline phosphatase, biomineralization associated	1,47	6,50.10 ⁻⁴
Amdhd1	amidohydrolase domain containing 1	0,73	4,50.10 ⁻⁴
Anapc1	anaphase promoting complex subunit 1	0,74	7,50.10 ⁻⁴
Ankrd33b	ankyrin repeat domain 33B	1,94	5,00.10 ⁻⁵
Aox3	aldehyde oxidase 3	0,63	5,00.10 ⁻⁵
Apol11a	apolipoprotein L 11a	0,56	1,00.10 ⁻⁴
Apol3	apolipoprotein L, 3	0,54	5,00.10 ⁻⁵
Arhgef3	Rho guanine nucleotide exchange factor 3	0,56	5,00.10 ⁻⁵
Asap3	ArfGAP with SH3 domain, ankyrin repeat and PH domain 3	1,44	1,50.10 ⁻⁴
Asns	asparagine synthetase (glutamine-hydrolyzing)	0,46	5,00.10 ⁻⁵
Aspa	aspartoacylase	2,10	6,00.10 ⁻⁴
Atp2b2	ATPase plasma membrane Ca ²⁺ transporting 2	0,47	5,00.10 ⁻⁵
Bcl6	BCL6, transcription repressor	0,70	4,50.10 ⁻⁴

Gène	Nom du gène	RT	P-valeur
Bhlhe40	basic helix-loop-helix family, member e40	1,48	5,00.10 ⁻⁵
Btg1	BTG anti-proliferation factor 1	1,39	2,00.10 ⁻⁴
C7	complement C7	0,63	6,00.10 ⁻⁴
Ca5a	carbonic anhydrase 5A	0,69	5,00.10 ⁻⁵
Car1	carbonic anhydrase 1	0,46	5,00.10 ⁻⁵
Car2	carbonic anhydrase 2	0,55	5,00.10 ⁻⁵
Card10	caspase recruitment domain family, member 10	1,40	3,50.10 ⁻⁴
Cbx6	chromobox 6	0,63	5,00.10 ⁻⁵
Ccdc158	coiled-coil domain containing 158	0,58	5,00.10 ⁻⁵
Ccdc80	coiled-coil domain containing 80	0,76	1,10.10 ⁻³
Cd36	CD36 molecule	0,64	5,00.10 ⁻⁵
Cd74	CD74 molecule	0,61	5,00.10 ⁻⁵
Cd99	CD99 molecule (Xg blood group)	1,54	5,00.10 ⁻⁵
Cdh17	cadherin 17	1,75	5,00.10 ⁻⁵
Cdkn1a	cyclin-dependent kinase inhibitor 1A	1,70	5,00.10 ⁻⁵
Ces2a	carboxylesterase 2A	0,55	5,00.10 ⁻⁵
Ces2e	carboxylesterase 2E	0,59	5,00.10 ⁻⁵
Ces2j	carboxylesterase 2J	0,54	1,15.10 ⁻³
Ces4a	carboxylesterase 4A	0,53	5,00.10 ⁻⁵
Cfap126	cilia and flagella associated protein 126	2,08	5,00.10 ⁻⁵
Chic1	cysteine-rich hydrophobic domain 1	0,70	2,00.10 ⁻⁴
Chmp4c	charged multivesicular body protein 4C	0,65	3,50.10 ⁻⁴
Cidea	cell death-inducing DFFA-like effector a	2,30	5,00.10 ⁻⁵
Cish	cytokine inducible SH2-containing protein	0,68	5,00.10 ⁻⁴
Cldn3	claudin 3	1,53	5,00.10 ⁻⁵
Cmtm8	CKLF-like MARVEL transmembrane domain containing 8	0,70	2,50.10 ⁻⁴
Col1a1	collagen type I alpha 1 chain	0,51	4,50.10 ⁻⁴
Cox6a1	cytochrome c oxidase subunit 6A1	1,31	1,10.10 ⁻³
Csmd1	CUB and Sushi multiple domains 1	0,42	5,00.10 ⁻⁵
Ctse	cathepsin E	0,45	3,50.10 ⁻⁴
Cux2	cut-like homeobox 2	0,14	5,00.10 ⁻⁵
Cxcl9	C-X-C motif chemokine ligand 9	0,63	7,50.10 ⁻⁴
Cyfip2	cytoplasmic FMR1 interacting protein 2	0,46	5,00.10 ⁻⁵
Cyp1a1	cytochrome P450, family 1, subfamily a, polypeptide 1	2,86	5,00.10 ⁻⁵
Cyp2b1	cytochrome P450, family 2, subfamily b, polypeptide 1	1,47	5,00.10 ⁻⁵
Cyp2c12	cytochrome P450, family 2, subfamily c, polypeptide 12	0,67	4,00.10 ⁻⁴
Cyp2d1	cytochrome P450, family 2, subfamily d, polypeptide 1	1,41	3,00.10 ⁻⁴
Cyp2d4	cytochrome P450, family 2, subfamily d, polypeptide 4	1,50	2,00.10 ⁻⁴

Gène	Nom du gène	RT	P-valeur
Cyp2d5	cytochrome P450, family 2, subfamily d, polypeptide 5	1,61	5,00.10 ⁻⁵
Cyp2u1	cytochrome P450, family 2, subfamily u, polypeptide 1	0,37	5,00.10 ⁻⁵
Cyp7a1	cytochrome P450 family 7 subfamily A member 1	1,55	1,50.10 ⁻⁴
Cyp7b1	cytochrome P450 family 7 subfamily B member 1	0,42	5,00.10 ⁻⁵
Dab1	DAB adaptor protein 1	0,48	5,00.10 ⁻⁵
Dapk1	death associated protein kinase 1	0,69	5,00.10 ⁻⁵
Dhrs7	dehydrogenase/reductase 7	1,49	2,00.10 ⁻⁴
Dkc1	dyskerin pseudouridine synthase 1	1,36	3,00.10 ⁻⁴
Dnajb4	DnaJ heat shock protein family (Hsp40) member B4	1,80	5,00.10 ⁻⁵
Dpysl2	dihydropyrimidinase-like 2	0,63	7,50.10 ⁻⁴
Egr1	early growth response 1	1,80	5,00.10 ⁻⁵
Enox1	ecto-NOX disulfide-thiol exchanger 1	0,36	5,00.10 ⁻⁵
Enpep	glutamyl aminopeptidase	0,73	2,50.10 ⁻⁴
Enpp5	ectonucleotide pyrophosphatase/phosphodiesterase family member 5	0,62	4,50.10 ⁻⁴
Epha4	Eph receptor A4	0,45	4,00.10 ⁻⁴
Esr1	estrogen receptor 1	0,56	5,00.10 ⁻⁵
Etnppl	ethanolamine-phosphate phospho-lyase	1,45	7,50.10 ⁻⁴
Eva1a	eva-1 homolog A, regulator of programmed cell death	0,68	5,00.10 ⁻⁵
Exoc3l4	exocyst complex component 3-like 4	0,50	4,50.10 ⁻⁴
Fdx1	ferredoxin 1	0,73	5,00.10 ⁻⁵
Flvcr2	FLVCR heme transporter 2	0,64	5,00.10 ⁻⁵
Fpgs	folylpolyglutamate synthase	0,74	3,50.10 ⁻⁴
Fzd4	frizzled class receptor 4	0,59	5,00.10 ⁻⁵
Galk1	galactokinase 1	1,39	5,00.10 ⁻⁵
Garnl3	GTPase activating Rap/RanGAP domain-like 3	1,97	3,00.10 ⁻⁴
Gbp5	guanylate binding protein 5	0,44	5,00.10 ⁻⁵
Gca	grancalcin	0,46	7,00.10 ⁻⁴
Gck	glucokinase	1,71	5,00.10 ⁻⁵
Gimd1	GIMAP family P-loop NTPase domain containing 1	0,36	5,00.10 ⁻⁵
Glt1d1	glycosyltransferase 1 domain containing 1	1,59	5,00.10 ⁻⁵
Gpat3	glycerol-3-phosphate acyltransferase 3	2,26	6,00.10 ⁻⁴
Hebp2	heme binding protein 2	0,17	5,00.10 ⁻⁵
Herc6	HECT & RLD domain containing E3 ubiquitin protein ligase 6	0,66	7,00.10 ⁻⁴
Herpud1	homocysteine inducible ER protein with ubiquitin like domain 1	1,35	4,50.10 ⁻⁴
Hjurp	Holliday junction recognition protein	0,53	4,50.10 ⁻⁴
Hrasls	-	1,81	5,00.10 ⁻⁵
Hrk	harakiri, BCL2 interacting protein	2,39	5,00.10 ⁻⁵
Hsd17b2	hydroxysteroid (17-beta) dehydrogenase 2	0,63	5,00.10 ⁻⁵

Gène	Nom du gène	RT	P-valeur
Hsp90aa1	heat shock protein 90 alpha family class A member 1	10,50	5,00.10 ⁻⁵
Hspb1	heat shock protein family B (small) member 1	2,34	5,00.10 ⁻⁵
Icam1	intercellular adhesion molecule 1	0,64	5,00.10 ⁻⁵
Ier3	immediate early response 3	0,64	5,00.10 ⁻⁵
Ifi47	interferon gamma inducible protein 47	0,48	5,00.10 ⁻⁵
Ifitm3	interferon induced transmembrane protein 3	0,70	4,00.10 ⁻⁴
Igf2bp3	insulin-like growth factor 2 mRNA binding protein 3	1,41	5,00.10 ⁻⁵
Igfbp2	insulin-like growth factor binding protein 2	1,66	5,00.10 ⁻⁵
Il1b	interleukin 1 beta	0,50	5,00.10 ⁻⁵
Il33	interleukin 33	0,69	1,00.10 ⁻⁴
Il7	interleukin 7	0,39	5,00.10 ⁻⁵
Inpp4a	inositol polyphosphate-4-phosphatase type I A	0,72	1,50.10 ⁻⁴
Insig1	insulin induced gene 1	1,47	5,00.10 ⁻⁵
Irf1	interferon regulatory factor 1	0,65	5,00.10 ⁻⁵
Irf2bp2	interferon regulatory factor 2 binding protein 2	1,44	1,00.10 ⁻⁴
Irgm	immunity-related GTPase M	0,55	5,00.10 ⁻⁵
Irx1	iroquois homeobox 1	0,68	6,50.10 ⁻⁴
Kng111	-	0,69	6,00.10 ⁻⁴
Kynu	kynureninase	0,73	3,50.10 ⁻⁴
LOC100359876	multifunctional protein ADE2-like	0,67	1,00.10 ⁻⁴
LOC100360791	tumor protein, translationally-controlled 1	0,34	5,00.10 ⁻⁵
LOC100362350	hydroxysteroid 17-beta dehydrogenase 6-like	0,07	5,00.10 ⁻⁵
LOC100910057	sulfotransferase 1C2-like	0,42	5,00.10 ⁻⁵
LOC100911515	triosephosphate isomerase-like	1,86	5,00.10 ⁻⁵
LOC102555634	interferon-inducible GTPase 1-like	0,64	5,00.10 ⁻⁵
LOC102557406	carboxylesterase 1E-like	0,18	5,00.10 ⁻⁵
LOC103690108	class I histocompatibility antigen, Non-RT1.A alpha-1 chain-like	2,75	5,00.10 ⁻⁵
LOC103692273	zinc finger protein 431-like	0,56	4,50.10 ⁻⁴
LOC108353237	class I histocompatibility antigen, Non-RT1.A alpha-1 chain-like	2,25	5,00.10 ⁻⁵
LOC298111	alpha2u globulin	0,09	5,00.10 ⁻⁵
LOC367746	similar to Spindlin-like protein 2 (SPIN-2)	0,18	5,00.10 ⁻⁵
LOC501038	Ab2-060	0,64	5,00.10 ⁻⁵
LOC685067	similar to guanylate binding protein family, member 6	0,47	5,00.10 ⁻⁵
LOC691153	-	2,06	1,05.10 ⁻³
LOC691658	similar to anterior pharynx defective 1b homolog	0,38	5,00.10 ⁻⁵
Lpin1	lipin 1	1,83	5,00.10 ⁻⁵
Lpl	lipoprotein lipase	0,42	5,00.10 ⁻⁵
Mab2113	mab-21 like 3	0,68	5,00.10 ⁻⁵

Gène	Nom du gène	RT	P-valeur
Mcm10	minichromosome maintenance 10 replication initiation factor	2,21	5,00.10 ⁻⁵
Mertk	MER proto-oncogene, tyrosine kinase	0,70	5,50.10 ⁻⁴
Mex3b	mex-3 RNA binding family member B	0,58	1,10.10 ⁻³
MGC105567	similar to cDNA sequence BC023105	1,96	1,50.10 ⁻⁴
MGC108823	similar to interferon-inducible GTPase	0,37	5,00.10 ⁻⁵
Mmd2	monocyte to macrophage differentiation-associated 2	0,48	5,00.10 ⁻⁵
Msrb1	methionine sulfoxide reductase B1	1,89	5,00.10 ⁻⁵
Mt2A	metallothionein 2A	0,71	3,00.10 ⁻⁴
Mybl1	MYB proto-oncogene like 1	0,51	5,00.10 ⁻⁵
Myh14	myosin heavy chain 14	2,61	5,00.10 ⁻⁵
Nampt	nicotinamide phosphoribosyltransferase	0,72	2,00.10 ⁻⁴
Ncald	neurocalcin delta	1,99	5,00.10 ⁻⁵
Nedd1	NEDD1 gamma-tubulin ring complex targeting factor	0,69	7,00.10 ⁻⁴
Ngef	neuronal guanine nucleotide exchange factor	1,49	5,00.10 ⁻⁵
Nipal1	NIPA-like domain containing 1	0,70	3,50.10 ⁻⁴
Noct	nocturnin	1,68	8,00.10 ⁻⁴
Nqo1	NAD(P)H quinone dehydrogenase 1	1,54	1,50.10 ⁻⁴
Nr0b2	nuclear receptor subfamily 0, group B, member 2	2,15	5,00.10 ⁻⁵
Nrp2	neuropilin 2	0,67	5,50.10 ⁻⁴
Oat	ornithine aminotransferase	0,68	5,00.10 ⁻⁵
Paqr9	progesterin and adipoQ receptor family member 9	0,62	5,00.10 ⁻⁵
Pcdh18	protocadherin 18	0,54	5,00.10 ⁻⁵
Per1	period circadian regulator 1	1,54	5,00.10 ⁻⁵
Per2	period circadian regulator 2	1,60	5,00.10 ⁻⁵
Pla2g16	-	0,73	7,50.10 ⁻⁴
Plek2	pleckstrin 2	2,68	1,15.10 ⁻³
Plekhg5	pleckstrin homology and RhoGEF domain containing G5	1,45	1,50.10 ⁻⁴
Plpp2	phospholipid phosphatase 2	1,36	6,00.10 ⁻⁴
Por	cytochrome p450 oxidoreductase	1,40	2,00.10 ⁻⁴
Ppp2r2b	protein phosphatase 2, regulatory subunit B, beta	0,41	5,00.10 ⁻⁵
Prickle1	prickle planar cell polarity protein 1	0,62	3,00.10 ⁻⁴
Prlr	prolactin receptor	0,34	5,00.10 ⁻⁵
Ptgfr	prostaglandin F receptor	0,70	2,00.10 ⁻⁴
Ptms	parathyrosin	1,49	5,00.10 ⁻⁵
Rab38	RAB38, member RAS oncogene family	0,71	1,50.10 ⁻⁴
Rad54l2	RAD54 like 2	0,61	5,00.10 ⁻⁵
Rarb	retinoic acid receptor, beta	0,72	3,00.10 ⁻⁴
Rasgef1b	RasGEF domain family, member 1B	1,42	2,00.10 ⁻⁴

Gène	Nom du gène	RT	P-valeur
Rassf6	Ras association domain family member 6	0,71	2,50.10 ⁻⁴
Rdh16	retinol dehydrogenase 16	1,69	5,00.10 ⁻⁵
RGD1305733	-	0,18	5,00.10 ⁻⁵
RGD1310769	-	0,74	4,50.10 ⁻⁴
RGD1560017	similar to Ac2-210	5,90	5,00.10 ⁻⁵
RGD1561715	similar to complement component 1, s subcomponent	0,69	5,00.10 ⁻⁵
RGD1561849	-	0,59	5,00.10 ⁻⁵
RGD1562310	-	1,87	5,00.10 ⁻⁵
RGD1562652	similar I histocompatibility antigen α chain cotton-top tamarin	2,73	8,00.10 ⁻⁴
RGD1564804	similar to chromosome 1 open reading frame 50	1,35	9,00.10 ⁻⁴
RGD1564865	similar to 20-alpha-hydroxysteroid dehydrogenase	0,58	5,00.10 ⁻⁵
Rmdn2	regulator of microtubule dynamics 2	0,73	6,00.10 ⁻⁴
Rplp2	ribosomal protein lateral stalk subunit P2	0,05	5,00.10 ⁻⁵
Rreb1	ras responsive element binding protein 1	0,70	5,00.10 ⁻⁵
RT1-A1	RT1 class Ia, locus A1	1,66	5,00.10 ⁻⁵
RT1-A2	RT1 class Ia, locus A2	1,55	5,00.10 ⁻⁵
RT1-Ba	RT1 class II, locus Ba	0,62	5,00.10 ⁻⁵
RT1-CE10	RT1 class I, locus CE10	1,76	5,00.10 ⁻⁵
RT1-CE2	RT1 class I, locus CE2	1,64	5,00.10 ⁻⁵
RT1-CE7	RT1 class I, locus CE7	1,64	5,00.10 ⁻⁵
RT1-Da	RT1 class II, locus Da	0,56	5,00.10 ⁻⁵
RT1-Db1	RT1 class II, locus Db1	0,67	5,50.10 ⁻⁴
RT1-P2-ps1	RT1 class I, locus P2, pseudogene 1	0,21	5,00.10 ⁻⁵
Rtn4ip1	reticulon 4 interacting protein 1	0,57	5,00.10 ⁻⁵
Rxrg	retinoid X receptor gamma	0,71	5,50.10 ⁻⁴
S1pr1	sphingosine-1-phosphate receptor 1	0,72	1,00.10 ⁻⁴
Sacs	sacsin molecular chaperone	0,66	1,50.10 ⁻⁴
Sall1	spalt-like transcription factor 1	0,68	5,00.10 ⁻⁵
Sdc4	syndecan 4	1,43	2,00.10 ⁻⁴
Sdr42e1	short chain dehydrogenase/reductase family 42E, member 1	0,75	4,50.10 ⁻⁴
Sds	serine dehydratase	0,65	5,00.10 ⁻⁵
Serpinh1	serpin family H member 1	0,55	5,00.10 ⁻⁵
Sez6	seizure related 6 homolog	1,65	5,00.10 ⁻⁵
Slc12a1	solute carrier family 12 member 1	2,38	5,00.10 ⁻⁵
Slc13a2	solute carrier family 13 member 2	0,62	2,00.10 ⁻⁴
Slc17a1	solute carrier family 17 member 1	0,75	9,00.10 ⁻⁴
Slc17a3	solute carrier family 17 member 3	0,67	5,00.10 ⁻⁵
Slc17a4	solute carrier family 17, member 4	0,67	5,00.10 ⁻⁵

Gène	Nom du gène	RT	P-valeur
Slc25a43	solute carrier family 25, member 43	0,44	5,00.10 ⁻⁵
Slc28a2	solute carrier family 28 member 2	0,73	4,00.10 ⁻⁴
Slc34a2	solute carrier family 34 member 2	0,65	2,00.10 ⁻⁴
Slc9a7	solute carrier family 9 member A7	0,37	5,00.10 ⁻⁵
Slpi	secretory leukocyte peptidase inhibitor	0,52	1,00.10 ⁻⁴
Sorl1	sortilin related receptor 1	1,51	5,00.10 ⁻⁵
Srd5a1	steroid 5 alpha-reductase 1	0,42	5,00.10 ⁻⁵
St6galnac4	ST6 N-acetylgalactosaminide alpha-2,6-sialyltransferase 4	0,50	5,00.10 ⁻⁵
Stambpl1	STAM binding protein-like 1	0,50	5,00.10 ⁻⁵
Sts	steroid sulfatase	1,32	1,20.10 ⁻³
Sult2a1	sulfotransferase family 2A member 1	0,60	5,00.10 ⁻⁵
Tenm2	teneurin transmembrane protein 2	0,56	1,00.10 ⁻³
Tfrc	transferrin receptor	1,53	5,00.10 ⁻⁵
Timp3	TIMP metalloproteinase inhibitor 3	0,52	1,00.10 ⁻⁴
Tmem30b	transmembrane protein 30B	0,43	5,00.10 ⁻⁵
Tnfaip3	TNF alpha induced protein 3	0,66	9,50.10 ⁻⁴
Tnfrsf25	TNF receptor superfamily member 25	1,93	6,50.10 ⁻⁴
Trim24	tripartite motif-containing 24	0,38	5,00.10 ⁻⁵
Tsc22d3	TSC22 domain family, member 3	1,70	5,00.10 ⁻⁵
Tsku	tsukushi, small leucine rich proteoglycan	1,58	5,00.10 ⁻⁵
Tspo2	translocator protein 2	2,29	9,00.10 ⁻⁴
Tstd3	thiosulfate sulfurtransferase like domain containing 3	0,65	4,00.10 ⁻⁴
Tysnd1	trypsin like peroxisomal matrix peptidase 1	1,37	5,00.10 ⁻⁵
Ubd	ubiquitin D	5,78	5,00.10 ⁻⁵
Ugt2a3	UDP glucuronosyltransferase family 2 member A3	1,58	5,00.10 ⁻⁵
Usp2	ubiquitin specific peptidase 2	2,08	5,00.10 ⁻⁵
UST4r	integral membrane transport protein UST4r	0,46	5,00.10 ⁻⁵
Vipr2	vasoactive intestinal peptide receptor 2	0,42	5,00.10 ⁻⁵
Vsig10	V-set and immunoglobulin domain containing 10	0,55	5,00.10 ⁻⁵
Xiap	X-linked inhibitor of apoptosis	0,74	3,00.10 ⁻⁴
Zfp189	zinc finger protein 189	1,73	5,00.10 ⁻⁵
Zfp354a	zinc finger protein 354A	1,73	5,00.10 ⁻⁵
Zfp518b	zinc finger protein 518B	0,68	1,00.10 ⁻⁴
Zfp608	zinc finger protein 608	0,65	5,50.10 ⁻⁴
Zfp955a	zinc finger protein 955A	0,53	1,00.10 ⁻⁴

Annexe 6 - Gènes hépatiques différentiellement transcrits pour les mâles F3 du groupe HD

Gène	Nom du gène	RT	P-valeur
A2ml1	alpha-2-macroglobulin-like 1	0,62	5,50.10 ⁻⁴
Aadat	aminoadipate aminotransferase	0,69	5,00.10 ⁻⁵
Aass	aminoadipate-semialdehyde synthase	0,67	5,00.10 ⁻⁵
Abca5	ATP binding cassette subfamily A member 5	0,68	9,00.10 ⁻⁴
Abca9	ATP binding cassette subfamily A member 9	0,73	9,50.10 ⁻⁴
Abcb1a	ATP binding cassette subfamily B member 1A	0,64	5,00.10 ⁻⁵
Abcb1b	ATP-binding cassette, subfamily B (MDR/TAP), member 1B	0,49	5,00.10 ⁻⁵
Ablim3	actin binding LIM protein family, member 3	0,72	7,50.10 ⁻⁴
Acad9	acyl-CoA dehydrogenase family, member 9	1,4	3,50.10 ⁻⁴
Acnat1	acyl-coenzyme A amino acid N-acyltransferase 1	0,46	5,00.10 ⁻⁵
Acnat2	acyl-coenzyme A amino acid N-acyltransferase 2	1,46	3,00.10 ⁻⁴
Acot5	acyl-CoA thioesterase 5	0,57	5,00.10 ⁻⁵
Acsm2a	-	0,37	5,00.10 ⁻⁵
Adam15	ADAM metallopeptidase domain 15	2,11	5,00.10 ⁻⁵
Adh4	alcohol dehydrogenase 4 (class II), pi polypeptide	0,64	5,00.10 ⁻⁵
Adh6	alcohol dehydrogenase 6 (class V)	0,31	5,00.10 ⁻⁵
Adh7	alcohol dehydrogenase 7 (class IV), mu or sigma polypeptide	0,69	5,00.10 ⁻⁵
Adora2b	adenosine A2B receptor	0,4	2,50.10 ⁻⁴
Ahr	aryl hydrocarbon receptor	0,67	5,00.10 ⁻⁵
Akr1c1	aldo-keto reductase family 1, member C1	0,54	5,00.10 ⁻⁵
Aldh1b1	aldehyde dehydrogenase 1 family, member B1	0,55	5,50.10 ⁻⁴
Aox2	aldehyde oxidase 2	0,65	5,00.10 ⁻⁵
Aox3	aldehyde oxidase 3	0,61	5,00.10 ⁻⁵
Apccd1	APC down-regulated 1	0,54	9,50.10 ⁻⁴
Arhgef37	Rho guanine nucleotide exchange factor 37	0,69	6,00.10 ⁻⁴
Atp1b1	ATPase Na ⁺ /K ⁺ transporting subunit beta 1	0,7	5,00.10 ⁻⁵
Atp2b2	ATPase plasma membrane Ca ²⁺ transporting 2	0,64	2,50.10 ⁻⁴
Atp2c1	ATPase secretory pathway Ca ²⁺ transporting 1	0,75	1,00.10 ⁻³
Atp5f1	-	0,04	5,00.10 ⁻⁵
Atp6v1b2	ATPase H ⁺ transporting V1 subunit B2	0,75	1,00.10 ⁻³
Bcl6	BCL6, transcription repressor	0,52	5,00.10 ⁻⁵

Gène	Nom du gène	RT	P-valeur
Bhlha15	basic helix-loop-helix family, member a15	2,06	5,00.10 ⁻⁵
Bhlhe40	basic helix-loop-helix family, member e40	1,66	5,00.10 ⁻⁵
C1qtnf3	C1q and TNF related 3	0,44	5,00.10 ⁻⁵
C4a	complement C4A	0,64	5,00.10 ⁻⁵
C7	complement C7	0,48	5,00.10 ⁻⁵
Cabp2	calcium binding protein 2	0,67	5,00.10 ⁻⁵
Cacna1d	calcium voltage-gated channel subunit alpha1 D	1,39	3,00.10 ⁻⁴
Cadm4	cell adhesion molecule 4	1,82	5,50.10 ⁻⁴
Cav2	caveolin 2	1,72	5,00.10 ⁻⁵
Cblc	Cbl proto-oncogene C	3,57	5,50.10 ⁻⁴
Cbx6	chromobox 6	0,54	5,00.10 ⁻⁵
Ccl22	C-C motif chemokine ligand 22	0,4	6,00.10 ⁻⁴
Ccnd1	cyclin D1	0,71	2,50.10 ⁻⁴
Ccser2	coiled-coil serine-rich protein 2	0,7	5,00.10 ⁻⁵
Cd36	CD36 molecule	0,71	7,00.10 ⁻⁴
Cd63	Cd63 molecule	1,44	5,00.10 ⁻⁵
Cd74	CD74 molecule	0,63	5,00.10 ⁻⁵
Celf2	CUGBP, Elav-like family member 2	0,67	3,00.10 ⁻⁴
Ces2e	carboxylesterase 2E	0,67	6,00.10 ⁻⁴
Chic1	cysteine-rich hydrophobic domain 1	0,58	5,00.10 ⁻⁵
Cidea	cell death-inducing DFFA-like effector a	3,56	5,00.10 ⁻⁵
Cldn1	claudin 1	0,71	1,50.10 ⁻⁴
Clstn1	calsyntenin 1	0,68	7,00.10 ⁻⁴
Cpt1b	carnitine palmitoyltransferase 1B	1,91	5,00.10 ⁻⁵
Csmd1	CUB and Sushi multiple domains 1	0,5	5,00.10 ⁻⁵
Cux2	cut-like homeobox 2	0,17	5,00.10 ⁻⁵
Cxcl1	C-X-C motif chemokine ligand 1	0,43	2,00.10 ⁻⁴
Cyfip2	cytoplasmic FMR1 interacting protein 2	0,24	5,00.10 ⁻⁵
Cyp1a1	cytochrome P450, family 1, subfamily a, polypeptide 1	2,29	1,00.10 ⁻⁴
Cyp1a2	cytochrome P450, family 1, subfamily a, polypeptide 2	0,64	1,50.10 ⁻⁴
Cyp2d1	cytochrome P450, family 2, subfamily d, polypeptide 1	1,38	7,00.10 ⁻⁴
Cyp2d5	cytochrome P450, family 2, subfamily d, polypeptide 5	1,74	5,00.10 ⁻⁵
Cyp2u1	cytochrome P450, family 2, subfamily u, polypeptide 1	0,6	5,00.10 ⁻⁵
Cyp7a1	cytochrome P450 family 7 subfamily A member 1	0,67	5,00.10 ⁻⁵
Cyp7b1	cytochrome P450 family 7 subfamily B member 1	0,5	5,00.10 ⁻⁵
Dab1	DAB adaptor protein 1	0,51	5,00.10 ⁻⁵
Dab2ip	DAB2 interacting protein	1,36	3,00.10 ⁻⁴
Dapk1	death associated protein kinase 1	0,67	5,00.10 ⁻⁵

Gène	Nom du gène	RT	P-valeur
Dbp	D-box binding PAR bZIP transcription factor	2,06	5,00.10 ⁻⁵
Dmtn	dematin actin binding protein	1,59	7,50.10 ⁻⁴
Dmxl2	Dmx-like 2	0,7	1,50.10 ⁻⁴
Dnah9	dynein, axonemal, heavy chain 9	0,41	5,00.10 ⁻⁵
Dstnl1	destrin-like 1	0,49	5,00.10 ⁻⁵
Egln3	egl-9 family hypoxia-inducible factor 3	0,51	2,00.10 ⁻⁴
Eif4ebp3	eukaryotic translation initiation factor 4E binding protein 3	0,63	5,00.10 ⁻⁵
Enox1	ecto-NOX disulfide-thiol exchanger 1	0,45	5,00.10 ⁻⁵
Epha4	Eph receptor A4	0,45	1,00.10 ⁻⁴
Ero1b	endoplasmic reticulum oxidoreductase 1 beta	0,68	5,00.10 ⁻⁵
Esr1	estrogen receptor 1	0,62	1,50.10 ⁻⁴
Esrrg	estrogen-related receptor gamma	1,42	4,00.10 ⁻⁴
Eva1a	eva-1 homolog A, regulator of programmed cell death	0,7	2,50.10 ⁻⁴
Fabp7	fatty acid binding protein 7	0,62	5,00.10 ⁻⁵
Fasn	fatty acid synthase	2,03	5,00.10 ⁻⁵
Fzd4	frizzled class receptor 4	0,66	5,00.10 ⁻⁵
G0s2	G0/G1switch 2	1,39	5,00.10 ⁻⁴
Gadd45g	growth arrest and DNA-damage-inducible, gamma	0,56	5,00.10 ⁻⁵
Gbp5	guanylate binding protein 5	0,51	5,00.10 ⁻⁵
Gemin6	gem (nuclear organelle) associated protein 6	1,64	5,00.10 ⁻⁵
Gimd1	GIMAP family P-loop NTPase domain containing 1	0,32	5,00.10 ⁻⁵
Gne	glucosamine (UDP-N-acetyl)-2-epimerase/N-acetylmannosamine kinase	0,63	5,00.10 ⁻⁵
Got1	glutamic-oxaloacetic transaminase 1	0,68	1,00.10 ⁻⁴
Gprin3	GPRIN family member 3	1,58	5,00.10 ⁻⁵
Gsn	gelsolin	0,53	5,00.10 ⁻⁵
Gsta2	glutathione S-transferase alpha 2	0,54	5,00.10 ⁻⁵
H2afz	-	1,49	5,00.10 ⁻⁵
Hes6	hes family bHLH transcription factor 6	1,68	5,00.10 ⁻⁵
Hnf4g	hepatocyte nuclear factor 4, gamma	0,7	1,00.10 ⁻³
Hrasls	-	2,96	5,00.10 ⁻⁵
Hsp90aa1	heat shock protein 90 alpha family class A member 1	4,9	5,00.10 ⁻⁵
Hspb1	heat shock protein family B (small) member 1	1,74	5,00.10 ⁻⁵
Ifi2712b	interferon, alpha-inducible protein 27 like 2B	1,45	5,00.10 ⁻⁵
Ifi47	interferon gamma inducible protein 47	0,55	5,00.10 ⁻⁵
Ifitm3	interferon induced transmembrane protein 3	0,7	5,00.10 ⁻⁴
Igf2bp3	insulin-like growth factor 2 mRNA binding protein 3	1,44	5,00.10 ⁻⁵
Igfbp1	insulin-like growth factor binding protein 1	0,48	5,00.10 ⁻⁵
Il1b	interleukin 1 beta	0,56	4,50.10 ⁻⁴

Gène	Nom du gène	RT	P-valeur
Il7	interleukin 7	0,59	1,00.10 ⁻³
Irf1	interferon regulatory factor 1	0,68	5,00.10 ⁻⁵
Irgm	immunity-related GTPase M	0,69	5,00.10 ⁻⁵
Itga6	integrin subunit alpha 6	1,41	4,00.10 ⁻⁴
Kng1	kininogen 1	0,59	5,00.10 ⁻⁵
Krt2	keratin 2	0,47	2,00.10 ⁻⁴
Krt79	keratin 79	0,67	1,50.10 ⁻⁴
Lect2	leukocyte cell-derived chemotaxin 2	0,76	1,05.10 ⁻³
Lilrb3	leukocyte immunoglobulin like receptor B3	0,65	5,00.10 ⁻⁵
LOC100134871	beta globin minor gene	0,52	5,00.10 ⁻⁵
LOC100359876	multifunctional protein ADE2-like	0,56	5,00.10 ⁻⁵
LOC100359937	GABA(A) receptor-associated protein-like 2-like	0,56	3,00.10 ⁻⁴
LOC100360145	H2A histone family, member Z-like	2,24	5,00.10 ⁻⁵
LOC100362069	ribosomal protein L28-like	0,6	5,00.10 ⁻⁵
LOC100362350	hydroxysteroid 17-beta dehydrogenase 6-like	0,04	2,00.10 ⁻⁴
LOC100909548	cation-dependent mannose-6-phosphate receptor-like	2,79	5,00.10 ⁻⁵
LOC100911238	proteasome maturation protein-like	0,49	5,00.10 ⁻⁵
LOC100912599	NADH dehydrogenase [ubiquinone] iron-sulfur protein 6	15,46	5,00.10 ⁻⁵
LOC102555850	60S ribosomal protein L10-like	1,44	2,50.10 ⁻⁴
LOC102557406	carboxylesterase 1E-like	0,14	5,00.10 ⁻⁵
LOC103689992	-	0,02	5,00.10 ⁻⁵
LOC103692273	zinc finger protein 431-like	0,46	5,00.10 ⁻⁵
LOC103694865	TATA-binding protein-associated factor 2N-like	0,56	1,00.10 ⁻³
LOC298111	alpha2u globulin	0,06	5,00.10 ⁻⁵
LOC501038	Ab2-060	0,62	5,00.10 ⁻⁵
LOC685067	similar to guanylate binding protein family, member 6	0,53	5,00.10 ⁻⁵
LOC688489	similar to alpha2u globulin	0,52	5,00.10 ⁻⁵
LOC691658	similar to anterior pharynx defective 1b homolog	0,36	5,00.10 ⁻⁵
Lpl	lipoprotein lipase	0,44	5,00.10 ⁻⁵
Ly49si1	immunoreceptor Ly49si1	2,32	2,00.10 ⁻⁴
Lyc2	lysozyme C type 2	0,69	3,50.10 ⁻⁴
Mid1ip1	MID1 interacting protein 1	1,52	5,00.10 ⁻⁵
Mknk2	MAPK interacting serine/threonine kinase 2	1,42	3,00.10 ⁻⁴
Mmd2	monocyte to macrophage differentiation-associated 2	0,39	5,00.10 ⁻⁵
Mme	membrane metallo-endopeptidase	0,66	3,50.10 ⁻⁴
Mro	maestro	0,69	5,00.10 ⁻⁵
Msmo1	methylsterol monooxygenase 1	1,45	2,00.10 ⁻⁴
Mvk	mevalonate kinase	1,44	7,50.10 ⁻⁴

groupe HD

Gène	Nom du gène	RT	P-valeur
Mybph	myosin binding protein H	0,51	2,50.10 ⁻⁴
Myh14	myosin heavy chain 14	4,22	5,00.10 ⁻⁵
Nap111	nucleosome assembly protein 1-like 1	0,73	6,50.10 ⁻⁴
Nqo1	NAD(P)H quinone dehydrogenase 1	1,97	5,00.10 ⁻⁵
Oasl	2'-5'-oligoadenylate synthetase-like	1,81	1,50.10 ⁻⁴
Olr59	olfactory receptor 59	0,73	9,50.10 ⁻⁴
Paqr9	progesterin and adipoQ receptor family member 9	0,69	1,00.10 ⁻⁴
Pcdh18	protocadherin 18	0,53	5,00.10 ⁻⁵
Pcp411	Purkinje cell protein 4-like 1	0,51	5,00.10 ⁻⁵
Pcsk9	proprotein convertase subtilisin/kexin type 9	1,95	5,00.10 ⁻⁵
Pde4b	phosphodiesterase 4B	0,6	5,00.10 ⁻⁴
Pdzk1	PDZ domain containing 1	0,71	5,00.10 ⁻⁵
Peg3	paternally expressed 3	0,74	5,50.10 ⁻⁴
Per2	period circadian regulator 2	1,74	5,00.10 ⁻⁵
Phf19	PHD finger protein 19	2,24	5,00.10 ⁻⁵
Pkhd1	PKHD1 ciliary IPT domain containing fibrocystin/polyductin	0,62	5,00.10 ⁻⁵
Pkp2	plakophilin 2	0,68	2,00.10 ⁻⁴
Pm20d2	peptidase M20 domain containing 2	0,66	2,00.10 ⁻⁴
Polg2	DNA polymerase gamma 2, accessory subunit	0,69	5,00.10 ⁻⁵
Ppard	peroxisome proliferator-activated receptor delta	1,67	5,00.10 ⁻⁵
Ppp2r2b	protein phosphatase 2, regulatory subunit B, beta	0,28	5,00.10 ⁻⁵
Prickle1	prickle planar cell polarity protein 1	0,6	1,00.10 ⁻⁴
Prlr	prolactin receptor	0,29	5,00.10 ⁻⁵
Prss32	protease, serine, 32	0,5	5,00.10 ⁻⁵
Ptk6	protein tyrosine kinase 6	1,93	2,50.10 ⁻⁴
Pxdc1	PX domain containing 1	0,73	4,00.10 ⁻⁴
Rarb	retinoic acid receptor, beta	0,72	5,50.10 ⁻⁴
Rasgef1b	RasGEF domain family, member 1B	0,71	4,50.10 ⁻⁴
Rdh16	retinol dehydrogenase 16	1,38	1,05.10 ⁻³
RGD1305733	-	0,45	5,00.10 ⁻⁵
RGD1308706	similar to RIKEN cDNA 4921524J17	1,37	6,00.10 ⁻⁴
RGD1310209	-	1,52	2,00.10 ⁻⁴
RGD1562652	similar I histocompatibility antigen α chain cotton-top tamarin	0,06	1,00.10 ⁻⁴
RGD1564865	similar to 20-alpha-hydroxysteroid dehydrogenase	0,72	5,50.10 ⁻⁴
Rgs16	regulator of G-protein signaling 16	0,49	1,00.10 ⁻⁴
Rgs12h	regulator of G-protein signaling like 2 homolog (mouse)	2,03	8,00.10 ⁻⁴
Rpl10l	ribosomal protein L10-like	1,56	5,00.10 ⁻⁴
RT1-Ba	RT1 class II, locus Ba	0,64	5,00.10 ⁻⁵

Gène	Nom du gène	RT	P-valeur
RT1-Bb	RT1 class II, locus Bb	0,54	5,00.10 ⁻⁵
RT1-Da	RT1 class II, locus Da	0,64	5,00.10 ⁻⁵
RT1-Db1	RT1 class II, locus Db1	0,59	5,00.10 ⁻⁵
RT1-N2	RT1 class Ib, locus N2	2,63	5,00.10 ⁻⁵
RT1-N3	RT1 class Ib, locus N3	1,65	5,50.10 ⁻⁴
Sacs	sacsin molecular chaperone	0,64	5,00.10 ⁻⁵
Sdr16c6	short chain dehydrogenase/reductase family 16C, member 6	4,25	5,00.10 ⁻⁵
Serpina7	serpin family A member 7	1,45	9,00.10 ⁻⁴
Sez6	seizure related 6 homolog	1,58	5,00.10 ⁻⁵
Slc13a2	solute carrier family 13 member 2	0,68	9,50.10 ⁻⁴
Slc13a3	solute carrier family 13 member 3	0,67	5,00.10 ⁻⁵
Slc17a4	solute carrier family 17, member 4	0,68	5,00.10 ⁻⁵
Slc1a2	solute carrier family 1 member 2	0,67	5,00.10 ⁻⁵
Slc1a4	solute carrier family 1 member 4	0,64	3,50.10 ⁻⁴
Slc22a5	solute carrier family 22 member 5	0,69	5,00.10 ⁻⁵
Slc25a43	solute carrier family 25, member 43	0,42	5,00.10 ⁻⁵
Slc2a12	solute carrier family 2 member 12	0,67	6,50.10 ⁻⁴
Slc9a7	solute carrier family 9 member A7	0,31	5,00.10 ⁻⁵
Slpi	secretory leukocyte peptidase inhibitor	0,5	5,00.10 ⁻⁵
Smpd3	sphingomyelin phosphodiesterase 3	0,69	6,50.10 ⁻⁴
Spp1	secreted phosphoprotein 1	0,45	6,50.10 ⁻⁴
Spsb4	spLA/ryanodine receptor domain and SOCS box containing 4	0,32	5,00.10 ⁻⁵
Srd5a1	steroid 5 alpha-reductase 1	0,52	5,00.10 ⁻⁵
Srebfl	sterol regulatory element binding transcription factor 1	1,72	2,50.10 ⁻⁴
Sstr3	somatostatin receptor 3	0,1	5,00.10 ⁻⁵
St8sia1	ST8 alpha-N-acetyl-neuraminide alpha-2,8-sialyltransferase 1	0,4	5,00.10 ⁻⁵
Stac3	SH3 and cysteine rich domain 3	1,73	5,00.10 ⁻⁵
Stambpl1	STAM binding protein-like 1	0,5	5,00.10 ⁻⁵
Tcp11l1	t-complex 11 like 1	0,69	5,00.10 ⁻⁴
Tenm2	teneurin transmembrane protein 2	0,31	5,00.10 ⁻⁵
Thbs1	thrombospondin 1	0,62	4,50.10 ⁻⁴
Timp3	TIMP metallopeptidase inhibitor 3	0,59	1,00.10 ⁻⁴
Tmed3	transmembrane p24 trafficking protein 3	0,46	5,00.10 ⁻⁵
Tmem30b	transmembrane protein 30B	0,41	5,00.10 ⁻⁵
Tmem9	transmembrane protein 9	2,26	5,00.10 ⁻⁵
Tnfaip3	TNF alpha induced protein 3	0,65	9,50.10 ⁻⁴
Tpd52l1	TPD52 like 1	0,1	5,00.10 ⁻⁵
Trim24	tripartite motif-containing 24	0,37	5,00.10 ⁻⁵

Gène	Nom du gène	RT	P-valeur
Trim36	tripartite motif-containing 36	0,36	5,00.10 ⁻⁵
Trip6	thyroid hormone receptor interactor 6	1,9	5,00.10 ⁻⁵
Tubb2a	tubulin, beta 2A class IIa	1,8	4,50.10 ⁻⁴
Ubd	ubiquitin D	21,58	5,00.10 ⁻⁵
Upp2	uridine phosphorylase 2	0,69	1,50.10 ⁻⁴
UST4r	integral membrane transport protein UST4r	0,57	5,00.10 ⁻⁵
Vipr2	vasoactive intestinal peptide receptor 2	0,3	5,00.10 ⁻⁵
Wfdc21	WAP four-disulfide core domain 21	1,88	5,00.10 ⁻⁵
Zfp39	zinc finger protein 39	0,59	1,00.10 ⁻³

Bibliographie

A

- ABD-ELHAKIM, Yasmina M, Amany T MOHAMMED et Haytham A ALI (2018). « Impact of subchronic exposure to triclosan and/or fluoride on estrogenic activity in immature female rats : The expression pattern of calbindin-D9k and estrogen receptor alpha genes. » In : *J Biochem Mol Toxicol* 32.2.
- ACADÉMIE NATIONALE DE MÉDECINE (s. d.). *Dictionnaire de l'académie nationale de médecine*. url : <http://dictionnaire.academie-medecine.fr/search/results?titre=hormone> [Février 2023].
- ADCOCK, Ian M (2003). « Glucocorticoid effects on physiology and gene expression. » In : *Encyclopedia of Hormones*. Sous la dir. d'Helen L. HENRY et Anthony W. NORMAN. Academic Press, p. 97-104.
- ADOAMNEI, Evdochia et al. (2018). « Urinary concentrations of parabens and reproductive parameters in young men. » In : *Sci Total Environ* 621, p. 201-209.
- AGARWAL, Swati et al. (2016). « Dynamin-related protein 1 inhibition mitigates bisphenol A-mediated alterations in mitochondrial dynamics and neural stem cell proliferation and differentiation. » In : *J Biol Chem* 291.31, p. 15923-15939.
- AGAS, Dimitrios, Maria Giovanna SABBieti et Luigi MARCHETTI (2013). « Endocrine disruptors and bone metabolism. » In : *Arch Toxicol* 87.4, p. 735-751.
- AGHAJANOVA, L et L C GIUDICE (2011). « Effect of bisphenol A on human endometrial stromal fibroblasts in vitro. » In : *Reprod Biomed Online* 22.3, p. 249-256.
- AHMED, Fozia et al. (2020). « The effects of acute BPA exposure on skeletal muscle mitochondrial function and glucose metabolism. » In : *Mol Cell Endocrinol* 499, p. 110580.
- AHSAN, Nida et al. (2018). « Comparative effects of bisphenol S and bisphenol A on the development of female reproductive system in rats ; a neonatal exposure study. » In : *Chemosphere* 197, p. 336-343.

- AKINGBEMI, Benson T et al. (2004). « Inhibition of testicular steroidogenesis by the xenoestrogen bisphenol A is associated with reduced pituitary luteinizing hormone secretion and decreased steroidogenic enzyme gene expression in rat Leydig cells. » In : *Endocrinology* 145.2, p. 592-603.
- AL-HIYASAT, Ahmad S, Homa DARMANI et Ahmed M ELBETIEHA (2002). « Effects of bisphenol A on adult male mouse fertility. » In : *Eur J Oral Sci* 110.2, p. 163-167.
- ALABERT, Constance et Anja GROTH (2012). « Chromatin replication and epigenome maintenance. » In : *Nature Reviews Molecular Cell Biology* 13.3, p. 153-167.
- ALONSO-MAGDALENA, Paloma et al. (2010). « Bisphenol A exposure during pregnancy disrupts glucose homeostasis in mothers and adult male offspring. » In : *Environ Health Perspect* 118.9, p. 1243-1250.
- ALTAMIRANO, Gabriela A et al. (2015). « Milk lipid composition is modified by perinatal exposure to bisphenol A. » In : *Mol Cell Endocrinol* 411, p. 258-267.
- ANASTASOVSKA, Jelena et al. (2012). « Fermentable carbohydrate alters hypothalamic neuronal activity and protects against the obesogenic environment. » In : *Obesity (Silver Spring)* 20.5, p. 1016-1023.
- ANDERSON, Olivia S et al. (2013). « Perinatal bisphenol A exposure promotes hyperactivity, lean body composition, and hormonal responses across the murine life course. » In : *FASEB J* 27.4, p. 1784-1792.
- ANWAY, Matthew D et al. (2005). « Epigenetic transgenerational actions of endocrine disruptors and male fertility. » In : *Science* 308.5727, p. 1466-1469.
- ASHBY, J. (2003). « Endocrine disruption occurring at doses lower than those predicted by classical chemical toxicity evaluations : The case of bisphenol A. » In : *Pure and Applied Chemistry* 75.11-12, p. 2167-2179.
- AUNG, Max T. et al. (2019). « Preterm birth in relation to the bisphenol A replacement, bisphenol S, and other phenols and parabens. » In : *Environmental Research* 169, p. 131-138.
- AUTRUP, Herman et al. (2020). « Human exposure to synthetic endocrine disrupting chemicals (S-EDCs) is generally negligible as compared to natural compounds with higher or comparable endocrine activity. How to evaluate the risk of the S-EDCs? » In : *Chem Biol Interact* 326, p. 109099.

AXELSTAD, Marta et al. (2013). « Triclosan exposure reduces thyroxine levels in pregnant and lactating rat dams and in directly exposed offspring. » In : *Food Chem Toxicol* 59, p. 534-540.

B

BABICH, H, D L DAVIS et G STOTZKY (1981). « Dibromochloropropane (DBCP) : A review. » In : *Sci Total Environ* 17.3, p. 207-221.

BANDELOW, Borwin et al. (2016). « Biological markers for anxiety disorders, OCD and PTSD - a consensus statement. Part I : Neuroimaging and genetics. » In : *World J Biol Psychiatry* 17.5, p. 321-365.

BANDELOW, Borwin et al. (2017). « Biological markers for anxiety disorders, OCD and PTSD : A consensus statement. Part II : Neurochemistry, neurophysiology and neurocognition. » In : *World J Biol Psychiatry* 18.3, p. 162-214.

BANERJEE, Rishi, Janne PURHONEN et Jukka KALLIJÄRVI (2022). « The mitochondrial coenzyme Q junction and complex III : biochemistry and pathophysiology. » In : *FEBS J* 289.22, p. 6936-6958.

BARKER, D J et C OSMOND (1986). « Infant mortality, childhood nutrition, and ischaemic heart disease in England and Wales. » In : *Lancet* 1.8489, p. 1077-1081.

BARKHEM, T et al. (1998). « Differential response of estrogen receptor alpha and estrogen receptor beta to partial estrogen agonists/antagonists. » In : *Mol Pharmacol* 54.1, p. 105-112.

BARRIÈRE, D A et al. (2019). « The SIGMA rat brain templates and atlases for multimodal MRI data analysis and visualization. » In : *Nat Commun* 10.1, p. 5699.

BELLAVIA, Andrea et al. (2019). « Urinary concentrations of parabens mixture and pregnancy glucose levels among women from a fertility clinic. » In : *Environ Res* 168, p. 389-396.

BEN-JONATHAN, Nira, Christopher R LAPENSEE et Elizabeth W LAPENSEE (2008). « What can we learn from rodents about prolactin in humans? » In : *Endocr Rev* 29.1, p. 1-41.

BENARROCH, Eduardo E (2019). « Insular cortex : Functional complexity and clinical correlations. » In : *Neurology* 93.21, p. 932-938.

- BENAVIDEZ, Nora L et al. (2021). « Organization of the inputs and outputs of the mouse superior colliculus. » In : *Nat Commun* 12.1, p. 4004.
- BENZIE, I F et J J STRAIN (1996). « The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of "antioxidant power" : the FRAP assay. » In : *Anal Biochem* 239.1, p. 70-76.
- BERG, Kelly A et William P CLARKE (2018). « Making sense of pharmacology : Inverse agonism and functional selectivity. » In : *Int J Neuropsychopharmacol* 21.10, p. 962-977.
- BERNAL, Juan (2007). « Thyroid hormone receptors in brain development and function. » In : *Nat Clin Pract Endocrinol Metab* 3.3, p. 249-259.
- BERNARD, Valérie, Jacques YOUNG et Nadine BINART (2019). « Prolactin - a pleiotropic factor in health and disease. » In : *Nat Rev Endocrinol* 15.6, p. 356-365.
- BERONIUS, Anna et Laura N VANDENBERG (2015). « Using systematic reviews for hazard and risk assessment of endocrine disrupting chemicals. » In : *Rev Endocr Metab Disord* 16.4, p. 273-287.
- BERTI, Cristiana et al. (2017). « Early-life nutritional exposures and lifelong health : immediate and long-lasting impacts of probiotics, vitamin D, and breastfeeding. » In : *Nutr Rev* 75.2, p. 83-97.
- BHAGAVAN, N.V. et Chung-Eun HA (2011). « Chapter 20 - Perturbations of energy metabolism : Obesity and diabetes mellitus. » In : *Essentials of Medical Biochemistry*. Sous la dir. de N.V. BHAGAVAN et Chung-Eun HA. Academic Press, p. 261-274.
- BIANCO-MIOTTO, T et al. (2017). « Epigenetics and DOHaD : from basics to birth and beyond. » In : *J Dev Orig Health Dis* 8.5, p. 513-519.
- BINGHAM EULA Cohrssen Barbara, Powell Charles H. (2001). *Patty's toxicology*. Fifth Edition. T. 9. Chemical Health et Safety.
- BLEIER, Lea et Stefan DRÖSE (2013). « Superoxide generation by complex III : From mechanistic rationales to functional consequences. » In : *Biochim Biophys Acta* 1827.11-12, p. 1320-1331.
- BLOOM, Michael S, Evelyn MOK-LIN et Victor Y FUJIMOTO (2016). « Bisphenol A and ovarian steroidogenesis. » In : *Fertil Steril* 106.4, p. 857-863.

- BOLGER, Anthony M, Marc LOHSE et Bjoern USADEL (2014). « Trimmomatic : A flexible trimmer for Illumina sequence data. » In : *Bioinformatics* 30.15, p. 2114-2120.
- BORGERT, C. J., C. FUENTES et L. D. BURGOON (2021). « Principles of dose-setting in toxicology studies : The importance of kinetics for ensuring human safety. » In : *Archives of Toxicology* 95.12, p. 3651-3664.
- BOUDALIA, Sofiane et al. (2021). « Relationship between endocrine disruptors and obesity with a focus on bisphenol A : A narrative review. » In : *Bioimpacts* 11.4, p. 289-300.
- BRAUN, Joseph M (2017). « Early-life exposure to EDCs : Role in childhood obesity and neurodevelopment. » In : *Nat Rev Endocrinol* 13.3, p. 161-173.
- BRESCIA, Susy (2020). « Thresholds of adversity and their applicability to endocrine disrupting chemicals. » In : *Crit Rev Toxicol* 50.3, p. 213-218.
- BUSUTTIL LEAVER, Rachel (2016). « Male infertility : An overview of causes and treatment options. » In : *Br J Nurs* 25.18, S35-S40.

C

- CAMPBELL, Jonathan E et Daniel J DRUCKER (2015). « Islet alpha-cells and glucagon-critical regulators of energy homeostasis. » In : *Nat Rev Endocrinol* 11.6, p. 329-338.
- CANTAROW, A. et M. TRUMPER (1944). *Lead poisoning*. Sous la dir. de WILLIAMS et Etats-Unis WILKINS. Williams et Wilkins.
- CAO, Xin-Yuan et al. (2018). « Impact of triclosan on female reproduction through reducing thyroid hormones to suppress hypothalamic kisspeptin neurons in mice. » In : *Frontiers in Molecular Neuroscience* 11.
- CARLSON, Bruce M (2021). *Muscle biology : The life history of a muscle*. Elsevier Science & Technology.
- CARSON, Rachel (1962). *Silent spring*. Sous la dir. d'Etats-Unis HOUGHTON MIFFLIN. Houghton Mifflin.
- CASARES, Doralicia, Pablo V ESCRIBÁ et Catalina Ana ROSSELLÓ (2019). « Membrane lipid composition : Effect on membrane and organelle structure, function and compartmentalization and therapeutic avenues. » In : *Int J Mol Sci* 20.9.

- CASTAGNÉ, Vincent et al. (2011). « Rodent models of depression : Forced swim and tail suspension behavioral despair tests in rats and mice. » In : *Curr Protoc Neurosci* Chapter 8, Unit 8.10A.
- CERÉ, Lucila I et al. (2021). « Induction of P-glycoprotein expression and activity by prolactin in female rat liver. » In : *Life Sci* 287, p. 119936.
- CETINIĆ, Katarina A et al. (2022). « The curious case of methylparaben : Anthropogenic contaminant or natural origin? » In : *Chemosphere* 294, p. 133781.
- CHEN, Fang et al. (2014). « Sex differences in the adult HPA axis and affective behaviors are altered by perinatal exposure to a low dose of bisphenol A. » In : *Brain Res* 1571, p. 12-24.
- CHEN, Tianyi et al. (2020). « Metabolomics study of the prefrontal cortex in a rat model of attention deficit hyperactivity disorder reveals the association between cholesterol metabolism disorder and hyperactive behavior. » In : *Biochem Biophys Res Commun* 523.2, p. 315-321.
- CHEN, Zhi et al. (2018). « Bisphenol A exposure remodels cognition of male rats attributable to excitatory alterations in the hippocampus and visual cortex. » In : *Toxicology* 410, p. 132-141.
- CHITRA, K C, C LATCHOUMYCANDANE et P P MATHUR (2003). « Induction of oxidative stress by bisphenol A in the epididymal sperm of rats. » In : *Toxicology* 185.1-2, p. 119-127.
- CIMMINO, Ilaria et al. (2020). « Potential mechanisms of bisphenol A (BPA) contributing to human disease. » In : *Int J Mol Sci* 21.16.
- COLTON, T et al. (1993). « Breast cancer in mothers prescribed diethylstilbestrol in pregnancy. Further follow-up. » In : *JAMA* 269.16, p. 2096-2100.
- COMBES, Robert D, Ian GAUNT et Michael BALLS (2004). « A scientific and animal welfare assessment of the OECD Health Effects Test Guidelines for the safety testing of chemicals under the European Union REACH system. » In : *Altern Lab Anim* 32.3, p. 163-208.
- COSMETIC INGREDIENT REVIEW (2010). *Triclosan*. Rapp. tech. Cosmetic Ingredient Review.

CROFTON, Kevin M et al. (2007). « Short-term in vivo exposure to the water contaminant triclosan : Evidence for disruption of thyroxine. » In : *Environ Toxicol Pharmacol* 24.2, p. 194-197.

D

DAI, Wei et al. (2021). « Oxidative stress-mediated apoptosis is involved in bisphenol S-induced reproductive toxicity in male C57BL/6 mice. » In : *J Appl Toxicol* 41.11, p. 1839-1851.

DARBRE, Philippa D. (2015). *Endocrine disruption and human health*. Sous la dir. de Philippa D. DARBRE. Academic Press, p. 3-26.

DARBRE, Philippa D (2017). « Endocrine disruptors and obesity. » In : *Curr Obes Rep* 6.1, p. 18-27.

DARGHOUTH, Malek et al. (2022). « Low-dose bisphenol S exposure induces hypospERMATOGENESIS and mitochondrial dysfunction in rats : A possible implication of StAR protein. » In : *Reprod Toxicol* 107, p. 104-111.

DECOURT, Jacques (2016). *Hormones*. Sous la dir. de France ENCYCLOPAEDIA UNIVERSALIS. Les Grands Articles. Encyclopaedia Universalis.

DEKANT, Wolfgang et Thomas COLNOT (2013). « Endocrine effects of chemicals : Aspects of hazard identification and human health risk assessment. » In : *Toxicol Lett* 223.3, p. 280-286.

DELLA SETA, Daniele et al. (2006). « Pubertal exposure to estrogenic chemicals affects behavior in juvenile and adult male rats. » In : *Horm Behav* 50.2, p. 301-307.

DEVIN, Anne et al. (2019). « Chapter 1 - Mitochondria : Ultrastructure, dynamics, biogenesis and main functions. » In : *Mitochondria in Obesity and Type 2 Diabetes*. Sous la dir. de Béatrice MORIO, Luc PÉNICAUD et Michel RIGOLET. Academic Press, p. 3-32.

DIECKMANN, W J et al. (1953). « Does the administration of diethylstilbestrol during pregnancy have therapeutic value? » In : *Am J Obstet Gynecol* 66.5, p. 1062-1081.

- DIETRICH, Daniel R et al. (2013). « Scientifically unfounded precaution drives European Commission's recommendations on EDC regulation, while defying common sense, well-established science and risk assessment principles. » In : *Food Chem Toxicol* 62, A1-4.
- DING, Don et al. (2010). « The EDKB : An established knowledge base for endocrine disrupting chemicals. » In : *BMC Bioinformatics* 11 Suppl 6.Suppl 6, S5.
- DIXON, Richard A. et Daneel FERREIRA (2002). « Genistein. » In : *Phytochemistry* 60.3, p. 205-211.
- DOMORADZKI, J Y et al. (2003). « Metabolism and pharmacokinetics of bisphenol A (BPA) and the embryo-fetal distribution of BPA and BPA-monoglucuronide in CD Sprague-Dawley rats at three gestational stages. » In : *Toxicol Sci* 76.1, p. 21-34.
- DOMORADZKI, J Y et al. (2004). « Age and dose dependency of the pharmacokinetics and metabolism of bisphenol A in neonatal Sprague-Dawley rats following oral administration. » In : *Toxicol Sci* 77.2, p. 230-242.
- DUAN, Yishuang et al. (2018). « Association of urinary concentrations of bisphenols with type 2 diabetes mellitus : A case-control study ». In : *Environmental Pollution* 243, p. 1719-1726.

E

- ERB, Carol (2006). « Chapter 28 - Embryology and teratology. » In : *The Laboratory Rat (Second Edition)*. Sous la dir. de Mark A. SUCKOW, Steven H. WEISBROTH et Craig L. FRANKLIN. Second Edition. American College of Laboratory Animal Medicine. Academic Press, p. 817-846.
- ERIKSSON, P S et al. (1998). « Neurogenesis in the adult human hippocampus. » In : *Nat Med* 4.11, p. 1313-1317.
- ETTINGER, Adrienne S, Monica L LEONARD et Jacquelyn MASON (2019). « CDC's lead poisoning prevention program : A long-standing responsibility and commitment to protect children from lead exposure. » In : *J Public Health Manag Pract* 25 Suppl 1, Lead Poisoning Prevention.Suppl 1 Lead Poisoning Prevention, S5-S12.

ETZEL, Taylor et al. (2018). « Prenatal urinary triclosan concentrations and child neurobehavior. » In : *Environ Int* 114, p. 152-159.

EUROPEAN ENVIRONMENT AGENCY (2019). *The European environment - State and outlook 2020*. Rapp. tech. European Union.

EUROPEAN MEDICINES AGENCY (2010). *Guideline on repeated dose toxicity*. Rapp. tech. European Union.

F

FAHEEM, Mehwish et Ramji Kumar BHANDARI (2021). « Detrimental effects of bisphenol compounds on physiology and reproduction in fish : A literature review. » In : *Environ Toxicol Pharmacol* 81, p. 103497.

FAN, Ying et al. (2018). « Preconception paternal bisphenol A exposure induces sex-specific anxiety and depression behaviors in adult rats. » In : *PLoS One* 13.2, e0192434.

FANIBUNDA, Sashaina E et al. (2018). « Thyroid hormone regulation of adult neurogenesis. » In : *Vitam Horm* 106, p. 211-251.

FARABOLLINI, F, S PORRINI et F DESSI-FULGHERIT (1999). « Perinatal exposure to the estrogenic pollutant bisphenol A affects behavior in male and female rats. » In : *Pharmacol Biochem Behav* 64.4, p. 687-694.

FAROON, Obaid et Patricia RUIZ (2016). « Polychlorinated biphenyls : New evidence from the last decade. » In : *Toxicol Ind Health* 32.11, p. 1825-1847.

FAURE, P. et J.-L. LAFOND (1995). « Measurement of plasma sulfhydryl and carbonyl groups as a possible indicator of protein oxidation. » In : *Analysis of Free Radicals in Biological Systems*. Sous la dir. d'A. E. FAVIER et al. Birkhäuser Basel, p. 237-248.

FECHTER, L D (1999). « Distribution of manganese in development. » In : *Neurotoxicology* 20.2-3, p. 197-201.

FELDT-RASMUSSEN, Ulla et Elisabeth R MATHIESEN (2011). « Endocrine disorders in pregnancy : Physiological and hormonal aspects of pregnancy. » In : *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab* 25.6, p. 875-884.

- FELTEN, David L., M. Kerry O'BANION et Mary Summo MAIDA (2016). *Netter's atlas of neuroscience*. Sous la dir. de David L. FELTEN, M. Kerry O'BANION et Mary Summo MAIDA. Third Edition. Elsevier, p. ii-iii.
- FENG, Yixing et al. (2016). « Endocrine disrupting effects of triclosan on the placenta in pregnant rats. » In : *PLoS One* 11.5, e0154758.
- FERGUSON, Kelly K. et al. (2018). « Environmental phenol associations with ultrasound and delivery measures of fetal growth. » In : *Environment International* 112, p. 243-250.
- FERGUSON, Sherry A, Charles D Jr LAW et Jordan S ABSHIRE (2011). « Developmental treatment with bisphenol A or ethinyl estradiol causes few alterations on early preweaning measures. » In : *Toxicol Sci* 124.1, p. 149-160.
- FERNANDEZ, Marina O et al. (2018). « Neonatal exposure to bisphenol A alters the hypothalamic-pituitary-thyroid axis in female rats. » In : *Toxicol Lett* 285, p. 81-86.
- FERNÁNDEZ-ELÍAS, Valentín E et al. (2015). « Relationship between muscle water and glycogen recovery after prolonged exercise in the heat in humans. » In : *Eur J Appl Physiol* 115.9, p. 1919-1926.
- FINDLAY, L (1935). « Lead poisoning in the infant and young child. » In : *Postgrad Med J* 11.117, p. 251-255.
- FINK, Julius, Brad Jon SCHOENFELD et Koichi NAKAZATO (2018). « The role of hormones in muscle hypertrophy. » In : *Phys Sportsmed* 46.1, p. 129-134.
- FOULDS, Charles E. et al. (2017). « Endocrine-disrupting chemicals and fatty liver disease. » In : *Nature Reviews Endocrinology* 13.8, p. 445-457.
- FREEMAN, M E et al. (2000). « Prolactin : Structure, function, and regulation of secretion. » In : *Physiol Rev* 80.4, p. 1523-1631.
- FROST, Gary et al. (2014). « The short-chain fatty acid acetate reduces appetite via a central homeostatic mechanism. » In : *Nat Commun* 5, p. 3611.
- FUJIMOTO, Tetsuya, Kazuhiko KUBO et Shuji AOU (2006). « Prenatal exposure to bisphenol A impairs sexual differentiation of exploratory behavior and increases depression-like behavior in rats. » In : *Brain Res* 1068.1, p. 49-55.
- FULLER, Richard et al. (2022). « Pollution and health : A progress update. » In : *Lancet Planet Health* 6.6, e535-e547.

G

- GÁLVEZ-ONTIVEROS, Yolanda et al. (2020). « Endocrine disruptors in food : Impact on gut microbiota and metabolic diseases. » In : *Nutrients* 12.4.
- GAO, Bei et al. (2017). « Profound perturbation induced by triclosan exposure in mouse gut microbiome : A less resilient microbial community with elevated antibiotic and metal resistomes. » In : *BMC Pharmacol Toxicol* 18.1, p. 46.
- GAYRARD, Véronique et al. (2020). « Toxicokinetics of bisphenol S in rats for predicting human bisphenol S clearance from allometric scaling. » In : *Toxicol Appl Pharmacol* 386, p. 114845.
- GBADEBO OLUKOLE, Samuel et al. (2019). « Melatonin attenuates bisphenol A-induced toxicity of the adrenal gland of Wistar rats. » In : *Environ Sci Pollut Res Int* 26.6, p. 5971-5982.
- GEDDES, Barbara A. et Neville M. LEFCOE (1973). « Respiratory smooth muscle relaxing effect of commercial steroid preparations. » In : *American Review of Respiratory Disease* 107.3, p. 395-399.
- GENCHI, Giuseppe et al. (2020). « The effects of cadmium toxicity. » In : *Int J Environ Res Public Health* 17.11.
- GEORGESCU, Teodora et al. (2020). « Acute effects of prolactin on hypothalamic prolactin receptor expressing neurones in the mouse. » In : *J Neuroendocrinol* 32.11, e12908.
- GEORGIEFF, Michael K et Sheila M INNIS (2005). « Controversial nutrients that potentially affect preterm neurodevelopment : Essential fatty acids and iron. » In : *Pediatr Res* 57.5 Pt 2, 99R-103R.
- GERARDO-GETTENS, T et al. (1989). « Prolactin stimulates food intake in a dose-dependent manner. » In : *Am J Physiol* 256.1 Pt 2, R276-80.
- GHADIR, Mohammad Reza et al. (2010). « The relationship between lipid profile and severity of liver damage in cirrhotic patients. » In : *Hepat Mon* 10.4, p. 285-288.
- GIDLOW, D A (2015). « Lead toxicity. » In : *Occup Med (Lond)* 65.5, p. 348-356.
- GOLDBERG, J M et T FALCONE (1999). « Effect of diethylstilbestrol on reproductive function. » In : *Fertil Steril* 72.1, p. 1-7.

- GONG, Pengfei et al. (2023). « Preconceptional exposure of adult male rats to bisphenol S impairs insulin sensitivity and glucose tolerance in their male offspring. » In : *Chemosphere* 314, p. 137691.
- GOODMAN, Julie E et al. (2009). « Weight-of-evidence evaluation of reproductive and developmental effects of low doses of bisphenol A. » In : *Crit Rev Toxicol* 39.1, p. 1-75.
- GREEN, Alan C. et Charles S. GROB (2003). « Hyperactivity. » In : *Encyclopedia of the Neurological Sciences*. Sous la dir. de Michael J. AMINOFF et Robert B. DAROFF. Academic Press, p. 604-608.
- GREENBERG, M (1994). « Knowledge of the health hazard of asbestos prior to the Merewether and Price report of 1930. » In : *Soc Hist Med* 7.3, p. 493-516.
- GUILBERT, Ariane et al. (2021). « Associations between a mixture of phenols and phthalates and child behaviour in a French mother-child cohort with repeated assessment of exposure. » In : *Environ Int* 156, p. 106697.
- GUILLETTE, L J Jr et al. (1994). « Developmental abnormalities of the gonad and abnormal sex hormone concentrations in juvenile alligators from contaminated and control lakes in Florida. » In : *Environ Health Perspect* 102.8, p. 680-688.
- GUILLETTE, L J Jr et al. (1996). « Reduction in penis size and plasma testosterone concentrations in juvenile alligators living in a contaminated environment. » In : *Gen Comp Endocrinol* 101.1, p. 32-42.
- GÜNZLER, W A, H KREMERS et L FLOHÉ (1974). « An improved coupled test procedure for glutathione peroxidase (EC 1.11.1.9.) in blood. » In : *Z Klin Chem Klin Biochem* 12.10, p. 444-448.
- GUO, Wenjing et al. (2019). « Persistent organic pollutants in food : Contamination sources, health effects and detection methods. » In : *Int J Environ Res Public Health* 16.22.
- GUO, Yajie et al. (2021). « Long-term exposure to low doses of bisphenol S has hypoglycaemic effect in adult male mice by promoting insulin sensitivity and repressing gluconeogenesis. » In : *Environ Pollut* 277, p. 116630.

H

- HAMID, Naima, Muhammad JUNAID et De-Sheng PEI (2021). « Combined toxicity of endocrine-disrupting chemicals : A review. » In : *Ecotoxicol Environ Saf* 215, p. 112136.
- HAMMERICH, L. et F. TACKE (2017). « Chapter 11 - Cytokines in steatohepatitis. » In : *Liver Pathophysiology*. Sous la dir. de Pablo MURIEL. Academic Press, p. 159-168.
- HAMPL, R et L STÁRKA (2020). « Endocrine disruptors and gut microbiome interactions. » In : *Physiol Res* 69.Suppl 2, S211-S223.
- HAO, Ying et al. (2022a). « Effects of chronic triclosan exposure on social behaviors in adult mice. » In : *J Hazard Mater* 424.Pt C, p. 127562.
- HAO, Ying et al. (2022b). « Maternal exposure to triclosan during lactation alters social behaviors and the hippocampal ultrastructure in adult mouse offspring. » In : *Toxicol Appl Pharmacol* 449, p. 116131.
- HARVEY, Brian H., Machteld E. CARSTENS et Joshua J.F. TALJAARD (1992). « Central effects of the preservative, methylparaben : In vivo activation of cAMP-specific phosphodiesterase and reduction of cortical cAMP. » In : *Biochemical Pharmacology* 44.6, p. 1053-1057.
- HARVEY, Philip W et Catherine SUTCLIFFE (2010). « Adrenocortical hypertrophy : Establishing cause and toxicological significance. » In : *J Appl Toxicol* 30.7, p. 617-626.
- HAUT CONSEIL DE LA SANTÉ PUBLIQUE (2014). *Expositions au plomb : Détermination de nouveaux objectifs de gestion*. Rapp. tech. Haut Conseil de la Santé Publique.
- HEBROK, Matthias et Michael S. GERMAN (2016). « Chapter 30 - Development of the endocrine pancreas. » In : *Endocrinology : Adult and Pediatric (Seventh Edition)*. Sous la dir. de J. Larry JAMESON et al. Seventh Edition. W.B. Saunders, 517-526.e5.
- HEIL, S H (1999). « Sex-specific effects of prolactin on food intake by rats. » In : *Horm Behav* 35.1, p. 47-54.
- HEINDEL, Jerrold J, Retha NEWBOLD et Thaddeus T SCHUG (2015). « Endocrine disruptors and obesity. » In : *Nat Rev Endocrinol* 11.11, p. 653-661.
- HEINDEL, Jerrold J et al. (2017). « Metabolism disrupting chemicals and metabolic disorders. » In : *Reprod Toxicol* 68, p. 3-33.

- HÉLIÈS-TOUSSAINT, Cécile et al. (2014). « Is bisphenol S a safe substitute for bisphenol A in terms of metabolic function? An in vitro study. » In : *Toxicol Appl Pharmacol* 280.2, p. 224-235.
- HERBST, A L, H ULFELDER et D C POSKANZER (1971). « Adenocarcinoma of the vagina. Association of maternal stilbestrol therapy with tumor appearance in young women. » In : *N Engl J Med* 284.15, p. 878-881.
- HERBST, A L et al. (1981). « Reproductive and gynecologic surgical experience in diethylstilbestrol-exposed daughters. » In : *Am J Obstet Gynecol* 141.8, p. 1019-1028.
- HIGHAM, Claire E, Gudmundur JOHANNSSON et Stephen M SHALET (2016). « Hypopituitarism. » In : *Lancet* 388.10058, p. 2403-2415.
- HOFFMAN, Daniel J et al. (2021). « Developmental origins of metabolic diseases. » In : *Physiol Rev* 101.3, p. 739-795.
- HOFSTETTER, John, Mark A. SUCKOW et Debra L. HICKMAN (2006). « Chapter 4 - Morphophysiology. » In : *The Laboratory Rat (Second Edition)*. Sous la dir. de Mark A. SUCKOW, Steven H. WEISBROTH et Craig L. FRANKLIN. Second Edition. American College of Laboratory Animal Medicine. Academic Press, p. 93-125.
- HOLLANDER, Carel F., A. Margreet de LEEUW et Matthew J. van ZWIETEN (1985). « Embryology, anatomy, histology, and ultrastructure of the liver, rat. » In : *Digestive System*. Sous la dir. de Thomas Carlyle JONES, Ulrich MOHR et Ronald Duncan HUNT. Springer Berlin Heidelberg, p. 3-9.
- HONMA, Shizuka et al. (2002). « Low dose effect of in utero exposure to bisphenol A and diethylstilbestrol on female mouse reproduction. » In : *Reprod Toxicol* 16.2, p. 117-122.
- HU, Jianzhong et al. (2016a). « Effect of postnatal low-dose exposure to environmental chemicals on the gut microbiome in a rodent model. » In : *Microbiome* 4.1, p. 26.
- HU, Pan et al. (2016b). « Differential effects on adiposity and serum marker of bone formation by post-weaning exposure to methylparaben and butylparaben. » In : *Environ Sci Pollut Res Int* 23.21, p. 21957-21968.

- HUA, Xu et al. (2019). « Exposure of pregnant mice to triclosan causes hyperphagic obesity of offspring via the hypermethylation of proopiomelanocortin promoter. » In : *Archives of Toxicology* 93.2, p. 547-558.
- HUANG, Da Wei, Brad T SHERMAN et Richard A LEMPICKI (2009). « Bioinformatics enrichment tools : Paths toward the comprehensive functional analysis of large gene lists. » In : *Nucleic Acids Res* 37.1, p. 1-13.
- HUANG, Wei, Peisi XIE et Zongwei CAI (2020). « Lipid metabolism disorders contribute to hepatotoxicity of triclosan in mice. » In : *Journal of Hazardous Materials* 384, p. 121310.
- HUANG, Wei et al. (2023). « Adverse effects of triclosan on kidney in mice : Implication of lipid metabolism disorders. » In : *Journal of Environmental Sciences* 124, p. 481-490.
- HUSEBYE, Eystein S et al. (2021). « Adrenal insufficiency. » In : *Lancet* 397.10274, p. 613-629.

I

- INSERM, Expertise Collective (1997). *Effets sur la santé des principaux types d'exposition à l'amiante*. Rapp. tech. INSERM.
- INSTITUTE FOR HEALTH METRICS AND EVALUATION (s. d.). *Institute for health metrics and evaluation - Health data*. url : <https://vizhub.healthdata.org/gbd-results/> [Août 2022].
- INTERNATIONAL AGENCY FOR RESEARCH ON CANCER (1977). *IARC monographs on the evaluation of carcinogenic risk of chemicals to man*. Sous la dir. de World Health ORGANIZATION. T. 14. Asbestos. World Health Organization.
- IRIBARNE-DURÁN, L M et al. (2022). « Concentrations of bisphenols, parabens, and benzophenones in human breast milk : A systematic review and meta-analysis. » In : *Sci Total Environ* 806.Pt 1, p. 150437.
- ISHIDO, Masami et al. (2004). « Bisphenol A causes hyperactivity in the rat concomitantly with impairment of tyrosine hydroxylase immunoreactivity. » In : *J Neurosci Res* 76.3, p. 423-433.

ISHIDO, Masami et al. (2011). « Rat hyperactivity by bisphenol A, but not by its derivatives, 3-hydroxybisphenol A or bisphenol A 3,4-quinone. » In : *Toxicol Lett* 206.3, p. 300-305.

J

JACKSON-BROWNE, Medina S et al. (2020). « Gestational and childhood urinary triclosan concentrations and academic achievement among 8-year-old children. » In : *Neurotoxicology* 78, p. 170-176.

JARRIGE, François (2011). « L'histoire des pollutions. Politique et démesure à l'ère industrielle. » In : *Rdl, la revue des livres* 2, p. 5-10.

JEDYNAK, Paulina et al. (2021). « Pregnancy exposure to synthetic phenols and placental DNA methylation - An epigenome-wide association study in male infants from the EDEN cohort. » In : *Environ Pollut* 290, p. 118024.

JEMINIWA, B O et al. (2021). « Gonadal sex steroid hormone secretion after exposure of male rats to estrogenic chemicals and their combinations. » In : *Mol Cell Endocrinol* 533, p. 111332.

JIANG, Ying et al. (2014). « Mitochondrial dysfunction in early life resulted from perinatal bisphenol A exposure contributes to hepatic steatosis in rat offspring. » In : *Toxicol Lett* 228.2, p. 85-92.

JING, Jiongjie et al. (2019). « Gestational exposure to bisphenol A and bisphenol S leads to fetal skeletal muscle hypertrophy independent of sex. » In : *Toxicol Sci* 172.2, p. 292-302.

JOHNS, Paul (2014). *Clinical neuroscience*. Sous la dir. de Paul JOHNS. Churchill Livingstone, p. i-iii.

JONES, Bryan A, Jordan J SHIMELL et Neil V WATSON (2011). « Pre- and postnatal bisphenol A treatment results in persistent deficits in the sexual behavior of male rats, but not female rats, in adulthood. » In : *Horm Behav* 59.2, p. 246-251.

JONES, Bryan A et Neil V WATSON (2012). « Perinatal BPA exposure demasculinizes males in measures of affect but has no effect on water maze learning in adulthood. » In : *Horm Behav* 61.4, p. 605-610.

JORGE, Ricardo E (2015). « Mood disorders. » In : *Handb Clin Neurol* 128, p. 613-631.

- JUN, H. W. et al. (1971). « Binding study of p-hydroxybenzoic acid esters to bovine serum albumin by fluorescent probe technique. » In : *Journal of Pharmaceutical Sciences* 60.12, p. 1821-1825.
- JUNG, Eui-Man et al. (2012). « Potential estrogenic activity of triclosan in the uterus of immature rats and rat pituitary GH3 cells. » In : *Toxicol Lett* 208.2, p. 142-148.
- JUREWICZ, Joanna et al. (2019). « Triclosan exposure and ovarian reserve. » In : *Reprod Toxicol* 89, p. 168-172.

K

- KABUTO, Hideaki, Masao AMAKAWA et Tsuyoshi SHISHIBORI (2004). « Exposure to bisphenol A during embryonic/fetal life and infancy increases oxidative injury and causes underdevelopment of the brain and testis in mice. » In : *Life Sci* 74.24, p. 2931-2940.
- KAIMAL, Amrita et al. (2021). « Prenatal exposure to bisphenols affects pregnancy outcomes and offspring development in rats. » In : *Chemosphere* 276, p. 130118.
- KARÁSEK, F et J SLAVÍČEK (1967). « Effect of heparin on the sensitivity of frog's rectus abdominis muscle to acetylcholine. » In : *Physiol Bohemoslov* 16.3, p. 251-255.
- KARSCH, Fred J. et Suzanne M. MOENTER (2003). « Endocrine rhythms : Generation, regulation, and integration ». In : *Encyclopedia of Hormones*. Sous la dir. d'Helen L. HENRY et Anthony W. NORMAN. Academic Press, p. 492-504.
- KATARIA, Anglina et al. (2017). « Exposure to bisphenols and phthalates and association with oxidant stress, insulin resistance, and endothelial dysfunction in children. » In : *Pediatr Res* 81.6, p. 857-864.
- KAUFMAN, R H et al. (1980). « Upper genital tract changes and pregnancy outcome in offspring exposed in utero to diethylstilbestrol. » In : *Am J Obstet Gynecol* 137.3, p. 299-308.
- KAUFMAN, Randal J. (2011). « Beta-cell failure, stress, and type 2 diabetes. » In : *New England Journal of Medicine* 365.20, p. 1931-1933.
- KELLER, Matthieu, Laura N VANDENBERG et Thierry D CHARLIER (2019). « The parental brain and behavior : A target for endocrine disruption. » In : *Front Neuroendocrinol* 54, p. 100765.

- KIM, Daehwan, Ben LANGMEAD et Steven L SALZBERG (2015). « HISAT : a fast spliced aligner with low memory requirements. » In : *Nat Methods* 12.4, p. 357-360.
- KIM, J C et al. (2001). « Evaluation of developmental toxicity in rats exposed to the environmental estrogen bisphenol A during pregnancy. » In : *Life Sci* 69.22, p. 2611-2625.
- KITAMURA, Y (1979). « Effects of local anesthetics on the peripheral nerve and the spinal cord. » In : *Osaka City Med J* 25.1, p. 7-24.
- KLIP, Helen et al. (2002). « Hypospadias in sons of women exposed to diethylstilbestrol in utero : A cohort study. » In : *Lancet* 359.9312, p. 1102-1107.
- KOMADA, Munekazu et al. (2014). « Newborn mice exposed prenatally to bisphenol A show hyperactivity and defective neocortical development. » In : *Toxicology* 323, p. 51-60.
- KOPCHICK, John J et al. (2020). « The effects of growth hormone on adipose tissue : Old observations, new mechanisms. » In : *Nat Rev Endocrinol* 16.3, p. 135-146.
- KORC, Murray (2003). « Diabetes mellitus in the era of proteomics. » In : *Mol Cell Proteomics* 2.6, p. 399-404.
- KOUTAKI, Diamanto et al. (2021). « The impact of bisphenol A on thyroid function in neonates and children : A systematic review of the literature. » In : *Nutrients* 14.1.
- KRAEUTER, Ann-Katrin, Paul C GUEST et Zoltán SARNYAI (2019). « The elevated plus maze test for measuring anxiety-like behavior in rodents. » In : *Methods Mol Biol* 1916, p. 69-74.
- KRAUSZ, Csilla et Antoni RIERA-ESCAMILLA (2018). « Genetics of male infertility. » In : *Nat Rev Urol* 15.6, p. 369-384.
- KRAUZLIS, Richard J, Lee P LOVEJOY et Alexandre ZÉNON (2013). « Superior colliculus and visual spatial attention. » In : *Annu Rev Neurosci* 36, p. 165-182.
- KUIPER, G G et al. (1998). « Interaction of estrogenic chemicals and phytoestrogens with estrogen receptor beta. » In : *Endocrinology* 139.10, p. 4252-4263.
- KUMAR, Vikas et al. (2009). « Alteration of testicular steroidogenesis and histopathology of reproductive system in male rats treated with triclosan. » In : *Reprod Toxicol* 27.2, p. 177-185.

KUREBAYASHI, Hideo et al. (2005). « Disposition of low doses of ¹⁴C-bisphenol A in male, female, pregnant, fetal, and neonatal rats. » In : *Arch Toxicol* 79.5, p. 243-252.

L

LAGARDE, Fabien et al. (2015). « Non-monotonic dose-response relationships and endocrine disruptors : A qualitative method of assessment. » In : *Environ Health* 14, p. 13.

LAN, Qing et al. (2004). « Hematotoxicity in workers exposed to low levels of benzene. » In : *Science* 306.5702, p. 1774-1776.

LANE, R E (1949). « The care of the lead worker. » In : *Br J Ind Med* 50.3, p. 193-212.

LAPPAS, Nicholas T. et Courtney M. LAPPAS (2022). *Forensic toxicology*. Sous la dir. de Nicholas T. LAPPAS et Courtney M. LAPPAS. Second Edition. Academic Press, p. iv.

LASSEN, Tina Harmer et al. (2016). « Prenatal triclosan exposure and anthropometric measures including anogenital distance in Danish infants. » In : *Environmental Health Perspectives* 124.8, p. 1261-1268.

LAWRENCE, Ruth A. et Robert M. LAWRENCE (2011). *Breastfeeding*. Sous la dir. de Ruth A. LAWRENCE et Robert M. LAWRENCE. T. 7. W.B. Saunders, p. ii-iii. URL : <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9781437707885100252>.

LEE, Seulbi et al. (2021). « Urinary concentrations of phenols and parabens and incident diabetes in midlife women : The study of women's health across the nation. » In : *Environ Epidemiol* 5.5, e171.

LEFLER, E.K. et C.M. HARTUNG (2017). « Disruptive behaviors and aggression. » In : *Reference Module in Neuroscience and Biobehavioral Psychology*. Elsevier.

LERNER, Henrik et Charlotte BERG (2015). « The concept of health in One Health and some practical implications for research and education : what is One Health ? » In : *Infect Ecol Epidemiol* 5, p. 25300.

Effets indésirables des médicaments : Pour la connaissance et l'information ! Le cas du DES. (2010).

LEVIN, Harvey S. et Robert L. RODNITZKY (1976). « Behavioral effects of organophosphate pesticides in man. » In : *Clinical Toxicology* 9.3, p. 391-405.

- LI, Dan et al. (2019). « A magic drug target : Androgen receptor. » In : *Med Res Rev* 39.5, p. 1485-1514.
- LI, Li et al. (2007). « Non-monotonic dose-response relationship in steroid hormone receptor-mediated gene expression. » In : *J Mol Endocrinol* 38.5, p. 569-585.
- LIEBERMAN, Michael A. et Richard G. SLEIGHT (2001). « Chapter 7 - Energy production and metabolism. » In : *Cell Physiology Source Book (Third Edition)*. Sous la dir. de Nicholas SPERELAKIS. Third Edition. Academic Press, p. 119-138.
- LIN, Ro-Ting et al. (2007). « Ecological association between asbestos-related diseases and historical asbestos consumption : An international analysis. » In : *Lancet* 369.9564, p. 844-849.
- LITWACK, Gerald (2018). « Chapter 6 - Insulin and sugars. » In : *Human Biochemistry*. Sous la dir. de Gerald LITWACK. Academic Press, p. 131-160.
- LIU, Buyun et al. (2017). « Bisphenol A substitutes and obesity in US adults : analysis of a population-based, cross-sectional study. » In : *The Lancet Planetary Health* 1.3, e114-e122.
- LOPEZ-LARSON, Melissa Patricia et al. (2012). « Reduced insular volume in attention deficit hyperactivity disorder. » In : *Psychiatry Res* 204.1, p. 32-39.
- LOPEZ-VICCHI, Felicitas et al. (2020). « Metabolic functions of prolactin : Physiological and pathological aspects. » In : *J Neuroendocrinol* 32.11, e12888.
- LUNDHOLM, C D (1997). « DDE-induced eggshell thinning in birds : Effects of p,p'-DDE on the calcium and prostaglandin metabolism of the eggshell gland. » In : *Comp Biochem Physiol C Pharmacol Toxicol Endocrinol* 118.2, p. 113-128.

M

- MA, Yue et al. (2020). « Perinatal triclosan exposure in the rat induces long-term disturbances in metabolism and gut microbiota in adulthood and old age. » In : *Environmental Research* 182, p. 109004.
- MAEDA, Kei ichiro, Satoshi OHKURA et Hiroko TSUKAMURA (2000). « Chapter 9 - Physiology of reproduction. » In : *The Laboratory Rat*. Sous la dir. de Georg J KRINKE. Handbook of Experimental Animals. Academic Press, p. 145-176.

- MAEDA, Naoyuki et al. (2019). « Rapid prolactin induction in adult male rats after treatment with diethylstilbestrol. » In : *J Neuroendocrinol* 31.10, e12769.
- MALAISÉ, Yann et al. (2017). « Gut dysbiosis and impairment of immune system homeostasis in perinatally-exposed mice to bisphenol A precede obese phenotype development. » In : *Sci Rep* 7.1, p. 14472.
- MANDAL, Tapas K et al. (2020). « Risk assessment of cosmetics using triclosan on future generation's germ cell maturation via lactating mother rats. » In : *Int J Environ Res Public Health* 17.4.
- MANSOURI, Abdellah, Charles-Henry GATTOLLIAT et Tarik ASSELAH (2018). « Mitochondrial dysfunction and signaling in chronic liver diseases. » In : *Gastroenterology* 155.3, p. 629-647.
- MANUKYAN, Levon et al. (2019). « Developmental exposure to a very low dose of bisphenol A induces persistent islet insulin hypersecretion in Fischer 344 rat offspring. » In : *Environ Res* 172, p. 127-136.
- MARKEY, Caroline M et al. (2002). « Endocrine disruptors : From Wingspread to environmental developmental biology. » In : *J Steroid Biochem Mol Biol* 83.1-5, p. 235-244.
- MARMUGI, Alice et al. (2012). « Low doses of bisphenol A induce gene expression related to lipid synthesis and trigger triglyceride accumulation in adult mouse liver. » In : *Hepatology* 55.2, p. 395-407.
- MARQUES, Ana C, Melissa MARIANA et Elisa CAIRRAO (2022). « Triclosan and its consequences on the reproductive, cardiovascular and thyroid levels. » In : *Int J Mol Sci* 23.19.
- MARRAUDINO, Marilena et al. (2021). « Hypothalamic expression of neuropeptide Y (NPY) and pro-opiomelanocortin (POMC) in adult male mice is affected by chronic exposure to endocrine disruptors. » In : *Metabolites* 11.6.
- MARROQUI, Laura et al. (2021). « Bisphenol-S and bisphenol-F alter mouse pancreatic beta-cell ion channel expression and activity and insulin release through an estrogen receptor ERbeta mediated pathway. » In : *Chemosphere* 265, p. 129051.
- MASUO, Yoshinori et Masami ISHIDO (2011). « Neurotoxicity of endocrine disruptors : Possible involvement in brain development and neurodegeneration. » In : *J Toxicol Environ Health B Crit Rev* 14.5-7, p. 346-369.

- MATTHIESSEN, Peter, James R WHEELER et Lennart WELTJE (2018). « A review of the evidence for endocrine disrupting effects of current-use chemicals on wildlife populations. » In : *Crit Rev Toxicol* 48.3, p. 195-216.
- MCCALLUM, Linsay, Stefanie LIP et Sandosh PADMANABHAN (2014). « Chapter 18 - Pharmacodynamic pharmacogenomics. » In : *Handbook of Pharmacogenomics and Stratified Medicine*. Sous la dir. de Sandosh PADMANABHAN. Academic Press, p. 365-383.
- MEDWID, Samantha, Haiyan GUAN et Kaiping YANG (2016). « Prenatal exposure to bisphenol A disrupts adrenal steroidogenesis in adult mouse offspring. » In : *Environ Toxicol Pharmacol* 43, p. 203-208.
- MEHEDINTU, C et al. (2014). « Endometriosis still a challenge. » In : *J Med Life* 7.3, p. 349-357.
- MENDONCA, K et al. (2014). « Bisphenol A concentrations in maternal breast milk and infant urine. » In : *Int Arch Occup Environ Health* 87.1, p. 13-20.
- MENG, Zhiyuan et al. (2018). « Effects of perinatal exposure to BPA and its alternatives (BPS, BPF and BPAF) on hepatic lipid and glucose homeostasis in female mice adolescent offspring. » In : *Chemosphere* 212, p. 297-306.
- MENG, Zhiyuan et al. (2019). « Effects of perinatal exposure to BPA, BPF and BPAF on liver function in male mouse offspring involving in oxidative damage and metabolic disorder. » In : *Environmental Pollution* 247, p. 935-943.
- MIAO, Maohua et al. (2015). « Associations between bisphenol A exposure and reproductive hormones among female workers. » In : *Int J Environ Res Public Health* 12.10, p. 13240-13250.
- MILANOVIĆ, Maja et al. (2021). « Comprehensive insight into triclosan-from widespread occurrence to health outcomes. » In : *Environ Sci Pollut Res Int*, p. 1-22.
- MITCHELL, H S (1932). « Lead poisoning in children. » In : *Can Med Assoc J* 26.5, p. 546-549.
- MØLLGÅRD, Kjeld et al. (2023). « A mesothelium divides the subarachnoid space into functional compartments. » In : *Science* 379.6627, p. 84-88.
- MONTAGNINI, Bruno Garcia et al. (2021). « Developmental and reproductive outcomes in male rats exposed to triclosan : Two-generation study. » In : *Front Endocrinol (Lausanne)* 12, p. 738980.

- MORIMOTO, Sumiko et al. (2022). « Maternal perinatal exposure to bisphenol S induces an estrogenic like effect in glucose homeostasis in male offspring. » In : *Environ Toxicol* 37.9, p. 2189-2200.
- MORNAGUI, Bessem et al. (2022). « Bisphenol S favors hepatic steatosis development via an upregulation of liver MCT1 expression and an impairment of the mitochondrial respiratory system. » In : *J Cell Physiol* 237.7, p. 3057-3068.
- MURIEL, Pablo (2017). *Liver pathophysiology*. Sous la dir. de Pablo MURIEL. Academic Press, p. iii.
- MUSTIELES, Vicente et al. (2018). « Maternal and paternal preconception exposure to bisphenols and size at birth. » In : *Human Reproduction* 33.8, p. 1528-1537.

N

- NADAL, Angel et al. (2017). « Endocrine-disrupting chemicals and the regulation of energy balance. » In : *Nat Rev Endocrinol* 13.9, p. 536-546.
- NADERI, Mohammad, Marian Y.L. WONG et Fatemeh GHOLAMI (2014). « Developmental exposure of zebrafish (*Danio rerio*) to bisphenol-S impairs subsequent reproduction potential and hormonal balance in adults. » In : *Aquatic Toxicology* 148, p. 195-203.
- NAEF, Lindsay et Barbara WOODSIDE (2007). « Prolactin/leptin interactions in the control of food intake in rats. » In : *Endocrinology* 148.12, p. 5977-5983.
- NAKAGAWA, Yoshio et Peter MOLDÉUS (1998). « Mechanism of p-hydroxybenzoate ester-induced mitochondrial dysfunction and cytotoxicity in isolated rat hepatocytes. » In : *Biochemical Pharmacology* 55.11, p. 1907-1914.
- NAKAGAWA, Yoshio et Gregory MOORE (1999). « Role of mitochondrial membrane permeability transition in p-hydroxybenzoate ester-induced cytotoxicity in rat hepatocytes. » In : *Biochemical Pharmacology* 58.5, p. 811-816.
- NAKIWALA, Dorothy et al. (2018). « In-utero exposure to phenols and phthalates and the intelligence quotient of boys at 5 years. » In : *Environ Health* 17.1, p. 17.
- NATIONAL INSTITUTE OF HEALTH (s. d.). *National institute of health - Epigenomics*. url : <http://commonfund.nih.gov/epigenomics/figure> [Février 2023].

- NEGISHI, Takayuki et al. (2004). « Behavioral alterations in response to fear-provoking stimuli and tranylcypromine induced by perinatal exposure to bisphenol A and nonylphenol in male rats. » In : *Environ Health Perspect* 112.11, p. 1159-1164.
- NESAN, Dinushan et al. (2021). « Gestational low-dose BPA exposure impacts supra-chiasmatic nucleus neurogenesis and circadian activity with transgenerational effects. » In : *Sci Adv* 7.22.
- NEWMAN, W J et al. (1971). « Registry of clear-cell carcinoma of genital tract in young women. » In : *N Engl J Med* 285.7, p. 407.
- NIKAIDO, Yasuyoshi et al. (2004). « Effects of maternal xenoestrogen exposure on development of the reproductive tract and mammary gland in female CD-1 mouse offspring. » In : *Reprod Toxicol* 18.6, p. 803-811.
- NOHYNEK, Gerhard J et al. (2013). « Endocrine disruption : Fact or urban legend ? » In : *Toxicol Lett* 223.3, p. 295-305.
- NORMAN, Anthony W. et Helen L. HENRY (2015). *Hormones*. Sous la dir. d'Anthony W. NORMAN et Helen L. HENRY. T. 3. Academic Press.
- NOWAK, Karolina et al. (2018). « Parabens and their effects on the endocrine system. » In : *Mol Cell Endocrinol* 474, p. 238-251.

O

- OISHI, Shinshi (2004). « Lack of spermatotoxic effects of methyl and ethyl esters of p-hydroxybenzoic acid in rats. » In : *Food and Chemical Toxicology* 42.11, p. 1845-1849.
- OKABAYASHI, Ken et Toshi WATANABE (2010). « Excretion of bisphenol A into rat milk. » In : *Toxicol Mech Methods* 20.3, p. 133-136.
- ORFILA, Mathieu (1818). *Traité des poisons tirés des règnes minéral, végétal et animal ou toxicologie générale*. Sous la dir. de Paris CROCHARD. T. 1. Crochard.
- ORTIGA-CARVALHO, Tânia M, Aniket R SIDHAYE et Fredric E WONDISFORD (2014). « Thyroid hormone receptors and resistance to thyroid hormone disorders. » In : *Nat Rev Endocrinol* 10.10, p. 582-591.

OUYANG, Fengxiu et al. (2018). « Maternal urinary triclosan level, gestational diabetes mellitus and birth weight in Chinese women. » In : *Science of The Total Environment* 626, p. 451-457.

P

PAL, Amrita et al. (2010). « Impacts of emerging organic contaminants on freshwater resources : Review of recent occurrences, sources, fate and effects. » In : *Science of The Total Environment* 408.24, p. 6062-6069.

PANAGIOTIDOU, Emily et al. (2014). « Perinatal exposure to low-dose bisphenol A affects the neuroendocrine stress response in rats. » In : *J Endocrinol* 220.3, p. 207-218.

PARK, Na-Youn et al. (2019). « Parabens in breast milk and possible sources of exposure among lactating women in Korea. » In : *Environ Pollut* 255.Pt 2, p. 113142.

PAXINOS, George (2017). *The rat brain in stereotaxic coordinates*. Elsevier Science.

PEAKALL, D B et G A FOX (1987). « Toxicological investigations of pollutant-related effects in Great Lakes gulls. » In : *Environ Health Perspect* 71, p. 187-193.

PELCH, Katherine et al. (2019). « A scoping review of the health and toxicological activity of bisphenol A (BPA) structural analogues and functional alternatives. » In : *Toxicology* 424, p. 152235.

PELCH, Katherine E et al. (2012). « Developmental exposure to xenoestrogens at low doses alters femur length and tensile strength in adult mice. » In : *Biol Reprod* 86.3, p. 69.

PEREZ, Kimberly M et al. (2005). « Reproductive outcomes in men with prenatal exposure to diethylstilbestrol. » In : *Fertil Steril* 84.6, p. 1649-1656.

PESSAH, Isaac N et al. (2019). « Neurotoxicity of polychlorinated biphenyls and related organohalogenes. » In : *Acta Neuropathol* 138.3, p. 363-387.

PHILIPPAT, Claire et al. (2014). « Prenatal exposure to phenols and growth in boys. » In : *Epidemiology* 25.5, p. 625-635.

PHILIPPAT, Claire et al. (2017). « Prenatal exposure to nonpersistent endocrine disruptors and behavior in boys at 3 and 5 years. » In : *Environ Health Perspect* 125.9, p. 097014.

- PHILIPS, Elise M et al. (2018). « First trimester urinary bisphenol and phthalate concentrations and time to pregnancy : A population-based cohort analysis. » In : *The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism* 103.9, p. 3540-3547.
- PHILIPS, Elise M et al. (2020). « Maternal bisphenol and phthalate urine concentrations and weight gain during pregnancy. » In : *Environ Int* 135, p. 105342.
- PHILLIPS, Karen P et al. (2008). « Assessing and managing risks arising from exposure to endocrine-active chemicals. » In : *J Toxicol Environ Health B Crit Rev* 11.3-4, p. 351-372.
- PIKE, A C et al. (1999). « Structure of the ligand-binding domain of oestrogen receptor beta in the presence of a partial agonist and a full antagonist. » In : *EMBO J* 18.17, p. 4608-4618.
- POIMENOVA, A et al. (2010). « Corticosterone-regulated actions in the rat brain are affected by perinatal exposure to low dose of bisphenol A. » In : *Neuroscience* 167.3, p. 741-749.
- POLLARD, Thomas D. et al. (2017). *Cell biology*. Sous la dir. de Thomas D. POLLARD et al. Third Edition. Elsevier, p. i-ii.
- PRIYANKA et al. (2020). « Gestational and lactational exposure to triclosan causes impaired fertility of F1 male offspring and developmental defects in F2 generation. » In : *Environ Pollut* 257, p. 113617.

Q

- QUEVEDO, João, André F. CARVALHO et Carlos A. ZARATE (2019). *Neurobiology of depression*. Sous la dir. de João QUEVEDO, André F. CARVALHO et Carlos A. ZARATE. Academic Press, p. i-ii.
- QUICLET, Charline et al. (2017). « Maternal exercise modifies body composition and energy substrates handling in male offspring fed a high-fat/high-sucrose diet. » In : *J Physiol* 595.23, p. 7049-7062.
- QUICLET, Charline et al. (2022). « Maternal training during lactation modifies breast milk fatty acid composition and male offspring glucose homeostasis in rat. » In : *Biochim Biophys Acta Mol Cell Biol Lipids* 1867.12, p. 159223.

R

- RADFORD, Elizabeth J (2018). « An Introduction to epigenetic mechanisms. » In : *Prog Mol Biol Transl Sci* 158, p. 29-48.
- RAMSKOV TETZLAFF, Cecilie N et al. (2020). « Bisphenols B, E, F, and S and 4-cumylphenol induce lipid accumulation in mouse adipocytes similarly to bisphenol A. » In : *Environ Toxicol* 35.5, p. 543-552.
- RANG, H P (2006). « The receptor concept : Pharmacology's big idea. » In : *Br J Pharmacol* 147 Suppl 1.Suppl 1, S9-16.
- REID, Glen et al. (2021). « Asbestos and zeolites : From A to Z via a common ion. » In : *Chem Res Toxicol* 34.4, p. 936-951.
- REPOUSKOU, Anastasia et al. (2020). « Long term transcriptional and behavioral effects in mice developmentally exposed to a mixture of endocrine disruptors associated with delayed human neurodevelopment. » In : *Sci Rep* 10.1, p. 9367.
- RIAD, Madeha A et al. (2018). « Reproductive toxic impact of subchronic treatment with combined butylparaben and triclosan in weanling male rats. » In : *J Biochem Mol Toxicol* 32.3, e22037.
- RICHARD, M J et al. (1992). « Malondialdehyde kit evaluated for determining plasma and lipoprotein fractions that react with thiobarbituric acid. » In : *Clin Chem* 38.5, p. 704-709.
- RÍOS, Ericka A de los et al. (2018). « Impaired prolactin actions mediate altered offspring metabolism induced by maternal high-fat feeding during lactation. » In : *FASEB J* 32.6, p. 3457-3470.
- ROBLED0, Candace et al. (2013). « Is bisphenol-A exposure during pregnancy associated with blood glucose levels or diagnosis of gestational diabetes? » In : *J Toxicol Environ Health A* 76.14, p. 865-873.
- ROCHESTER, Johanna R (2013). « Bisphenol A and human health : A review of the literature. » In : *Reprod Toxicol* 42, p. 132-155.
- ROCHESTER, Johanna R et Ashley L BOLDEN (2015). « Bisphenol S and F : A systematic review and comparison of the hormonal activity of bisphenol A substitutes. » In : *Environ Health Perspect* 123.7, p. 643-650.

- ROLDAN, Eduardo R.S. (2018). « Male fertility overview. » In : *Encyclopedia of Reproduction (Second Edition)*. Sous la dir. de Michael K. SKINNER. Second Edition. Academic Press, p. 408-415.
- ROLFO, Alessandro et al. (2020). « Fetal-maternal exposure to endocrine disruptors : Correlation with diet intake and pregnancy outcomes. » In : *Nutrients* 12.6.
- ROMANÍ-PÉREZ, Marina et al. (2021). « The microbiota and the gut-brain axis in controlling food intake and energy homeostasis. » In : *Int J Mol Sci* 22.11.
- RUSZKIEWICZ, Joanna A et al. (2017). « Is triclosan a neurotoxic agent ? » In : *J Toxicol Environ Health B Crit Rev* 20.2, p. 104-117.
- RYAN, Bryce C et John G VANDENBERGH (2006). « Developmental exposure to environmental estrogens alters anxiety and spatial memory in female mice. » In : *Horm Behav* 50.1, p. 85-93.

S

- HANNSJÖRG SCHRÖDER Natasha Moser, Stefan Huggenberger (2020). *Neuroanatomy of the mouse - An introduction*. Sous la dir. de Springer CHAM. Springer Cham.
- SANDBORGH-ENGLUND, Gunilla et al. (2006). « Pharmacokinetics of triclosan following oral ingestion in humans. » In : *J Toxicol Environ Health A* 69.20, p. 1861-1873.
- SANTÉ PUBLIQUE FRANCE (s. d.[a]). *Santé publique France - Diabète*. url : <https://www.santepubliquefrance.fr/maladies-et-traumatismes/diabete> [Mars 2023].
- (s. d.[b]). *Santé publique France - Saturnisme infantile*. url : <https://www.santepubliquefrance.fr/maladies-et-traumatismes/maladies-de-la-mere-et-de-l-enfant/saturnisme-de-l-enfant/documents/bulletin-national/evolution-du-saturnisme-chez-l-enfant.-bilan-2015-2018> [Février 2023].
- SANTORO, Antonietta et al. (2021). « Multi-systemic alterations by chronic exposure to a low dose of bisphenol A in drinking water : Effects on inflammation and NAD(+)-dependent deacetylase sirtuin1 in lactating and weaned rats. » In : *Int J Mol Sci* 22.18.
- SCHRAMM, Elisabeth et al. (2020). « Review of dysthymia and persistent depressive disorder : History, correlates, and clinical implications. » In : *Lancet Psychiatry* 7.9, p. 801-812.

- SCHWEITZER, Julie B. et al. (2012). « Chapter 22 - Attention-deficit/hyperactivity disorder. » In : *Neurobiology of Psychiatric Disorders*. Sous la dir. de Michael J. AMINOFF, François BOLLER et Dick F. SWAAB. T. 106. Handbook of Clinical Neurology. Elsevier, p. 391-405.
- SCIENTIFIC COMMITTEE ON CONSUMER PRODUCTS (2009). *Opinion on triclosan*. Rapp. tech. European Commission.
- SEMPLE, Bridgette D et al. (2013). « Brain development in rodents and humans : Identifying benchmarks of maturation and vulnerability to injury across species. » In : *Prog Neurobiol* 106-107, p. 1-16.
- SHAPIRO, G D et al. (2015). « Exposure to phthalates, bisphenol A and metals in pregnancy and the association with impaired glucose tolerance and gestational diabetes mellitus : The MIREC study. » In : *Environ Int* 83, p. 63-71.
- SHI, Mingxin et al. (2017). « Effects of bisphenol A analogues on reproductive functions in mice. » In : *Reprod Toxicol* 73, p. 280-291.
- (2018). « Prenatal exposure to bisphenol A analogues on male reproductive functions in mice. » In : *Toxicol Sci* 163.2, p. 620-631.
- SHI, Mingxin et al. (2019). « Prenatal exposure to bisphenol A, E, and S induces transgenerational effects on female reproductive functions in mice. » In : *Toxicol Sci* 170.2, p. 320-329.
- SILVA, Beatriz Souza da et al. (2019). « Short and long-term effects of bisphenol S (BPS) exposure during pregnancy and lactation on plasma lipids, hormones, and behavior in rats. » In : *Environ Pollut* 250, p. 312-322.
- SINICROPI, Maria Stefania et al. (2022). « Triclosan : A small molecule with controversial roles. » In : *Antibiotics (Basel)* 11.6.
- SKINNER, Michael K (2016). « Endocrine disruptors in 2015 : Epigenetic transgenerational inheritance. » In : *Nat Rev Endocrinol* 12.2, p. 68-70.
- SLACK, J M (1995). « Developmental biology of the pancreas. » In : *Development* 121.6, p. 1569-1580.
- SMITH, Tim et Chris MOWATT (2016). « Chapter 26 - Pharmacodynamics. » In : *Fundamentals of Anaesthesia*. Sous la dir. de Ted LIN, Tim SMITH et Colin Editors PINNOCK. 4^e éd. Cambridge University Press, p. 550-561.

- SNYDER, R W et al. (2000). « Metabolism and disposition of bisphenol A in female rats. » In : *Toxicol Appl Pharmacol* 168.3, p. 225-234.
- SOBRINHO, Luis G et Nelson D HORSEMAN (2019). « Prolactin and human weight disturbances : A puzzling and neglected association. » In : *Rev Endocr Metab Disord* 20.2, p. 197-206.
- SOCIÉTÉ FRANÇAISE D'HYGIÈNE HOSPITALIÈRE (2016). *Antisepsie de la peau saine avant un geste invasif chez l'adulte - Recommandations pour la pratique clinique*. Rapp. tech. Société Française d'Hygiène Hospitalière.
- SOLECKI, Roland et al. (2017). « Scientific principles for the identification of endocrine-disrupting chemicals : A consensus statement. » In : *Arch Toxicol* 91.2, p. 1001-1006.
- SOMM, Emmanuel et al. (2009). « Perinatal exposure to bisphenol a alters early adipogenesis in the rat. » In : *Environ Health Perspect* 117.10, p. 1549-1555.
- SONG, Shiming et al. (2019). « Serum concentrations of bisphenol A and its alternatives in elderly population living around e-waste recycling facilities in China : Associations with fasting blood glucose. » In : *Ecotoxicology and Environmental Safety* 169, p. 822-828.
- SONI, M G et al. (2002). « Evaluation of the health aspects of methyl paraben : A review of the published literature. » In : *Food Chem Toxicol* 40.10, p. 1335-1373.
- SONTAG, Thomas A et al. (2010). « Animal models of attention deficit/hyperactivity disorder (ADHD) : A critical review. » In : *Atten Defic Hyperact Disord* 2.1, p. 1-20.
- SPALDING, Kirsty L et al. (2013). « Dynamics of hippocampal neurogenesis in adult humans. » In : *Cell* 153.6, p. 1219-1227.
- STACY, Shaina L et al. (2017). « Early life bisphenol A exposure and neurobehavior at 8 years of age : Identifying windows of heightened vulnerability. » In : *Environ Int* 107, p. 258-265.
- STAHL, Leanne L et al. (2009). « Contaminants in fish tissue from US lakes and reservoirs : A national probabilistic study. » In : *Environ Monit Assess* 150.1-4, p. 3-19.
- STEINMETZ, R et al. (1997). « The environmental estrogen bisphenol A stimulates prolactin release in vitro and in vivo. » In : *Endocrinology* 138.5, p. 1780-1786.

STOCKHOLM CONVENTION AND UNITED NATION ENVIRONMENT PROGRAMME (2020). *Stockholm convention on persistent organic pollutants*. Rapp. tech. Stockholm Convention et United Nation environment programme.

SVINGEN, Terje et Anne Marie VINGGAARD (2016). « The risk of chemical cocktail effects and how to deal with the issue. » In : *J Epidemiol Community Health* 70.4, p. 322-323.

SWAN, S H (2000). « Intrauterine exposure to diethylstilbestrol : Long-term effects in humans. » In : *APMIS* 108.12, p. 793-804.

SZKUDELSKA, Katarzyna, Monika OKULICZ et Tomasz SZKUDELSKI (2021). « Bisphenol A disturbs metabolism of primary rat adipocytes without affecting adipokine secretion. » In : *Environ Sci Pollut Res Int* 28.18, p. 23301-23309.

T

TABARI, Shaghayegh Alizadeh et al. (2019). « Neurobehavioral toxicity of triclosan in mice. » In : *Food Chem Toxicol* 130, p. 154-160.

TAHA, Mohamed, Abeer M MARIE et Omar A AHMED-FARID (2020). « Combined approaches for evaluation of xenoestrogen neural toxicity and thyroid dysfunction : Screening of oxido-nitrosative markers, DNA fragmentation, and biogenic amine degradation. » In : *J Biochem Mol Toxicol*, e22521.

TAKAKI, A., D. UCHIDA et K. YAMAMOTO (2017). « Chapter 12 - Redox signaling in NASH. » In : *Liver Pathophysiology*. Sous la dir. de Pablo MURIEL. Academic Press, p. 169-180.

TALIA, Chiara, Lisa CONNOLLY et Paul A FOWLER (2021). « The insulin-like growth factor system : A target for endocrine disruptors ? » In : *Environ Int* 147, p. 106311.

TANG, Zhao et al. (2021). « A review of 17alpha-ethynylestradiol (EE2) in surface water across 32 countries : Sources, concentrations, and potential estrogenic effects. » In : *J Environ Manage* 292, p. 112804.

TANNER, Eva M et al. (2020). « Early prenatal exposure to suspected endocrine disruptor mixtures is associated with lower IQ at age seven. » In : *Environ Int* 134, p. 105185.

- TARDIF, E et S CLARKE (2002). « Commissural connections of human superior colliculus. » In : *Neuroscience* 111.2, p. 363-372.
- THAPAR, Anita et Miriam COOPER (2016). « Attention deficit hyperactivity disorder. » In : *Lancet* 387.10024, p. 1240-1250.
- TIWARI, Shashi Kant et al. (2015). « Inhibitory effects of bisphenol-A on neural stem cells proliferation and differentiation in the rat brain are dependent on wnt/beta-catenin pathway. » In : *Mol Neurobiol* 52.3, p. 1735-1757.
- TOYAMA, Yoshiro et Shigeki YUASA (2004). « Effects of neonatal administration of 17beta-estradiol, beta-estradiol 3-benzoate, or bisphenol A on mouse and rat spermatogenesis. » In : *Reprod Toxicol* 19.2, p. 181-188.
- TRAN, Dinh Nam et al. (2020). « Perinatal exposure to triclosan results in abnormal brain development and behavior in mice. » In : *Int J Mol Sci* 21.11.
- TRAPNELL, Cole et al. (2010). « Transcript assembly and quantification by RNA-seq reveals unannotated transcripts and isoform switching during cell differentiation. » In : *Nat Biotechnol* 28.5, p. 511-515.
- TREVIÑO, Lindsey S et Tiffany A KATZ (2017). « Endocrine disruptors and developmental origins of nonalcoholic fatty liver disease. » In : *Endocrinology* 159.1, p. 20-31.
- TUCKER, Deirdre K et al. (2018). « Evaluation of prenatal exposure to bisphenol analogues on development and long-term health of the mammary gland in female mice. » In : *Environ Health Perspect* 126.8, p. 087003.
- TYRER, Peter et David BALDWIN (2006). « Generalised anxiety disorder. » In : *Lancet* 368.9553, p. 2156-2166.
- TZORTZATOU, F et F G HAYHOE (1974). « The effect of folate antagonists on dihydrofolate reductase activity demonstrated cytochemically. » In : *Br J Haematol* 28.2, p. 209-216.

U

- ULLAH, Asad et al. (2018a). « Bisphenol A and its analogs bisphenol B, bisphenol F, and bisphenol S : Comparative in vitro and in vivo studies on the sperms and testicular tissues of rats. » In : *Chemosphere* 209, p. 508-516.

- ULLAH, Asad et al. (2018b). « Impact of low-dose chronic exposure to bisphenol A and its analogue bisphenol B, bisphenol F and bisphenol S on hypothalamo-pituitary-testicular activities in adult rats : A focus on the possible hormonal mode of action. » In : *Food Chem Toxicol* 121, p. 24-36.
- ULLAH, Hizb et al. (2016). « Effect of bisphenol S exposure on male reproductive system of rats : A histological and biochemical study. » In : *Chemosphere* 152, p. 383-391.
- ULLAH, Hizb et al. (2021). « Chronic exposure of bisphenol S (BPS) affect hypothalamic-pituitary-testicular activities in adult male rats : Possible in estrogenic mode of action. » In : *Environ Health Prev Med* 26.1, p. 31.
- UNITED NATIONS (2008). *Report of the conference of the parties to the rotterdam convention on the prior informed consent procedure for certain hazardous chemicals and pesticides in international trade on the work of its fourth meeting*. Rapp. tech. United Nations.
- UPMEIER, A et al. (2000). « Toxicokinetics of bisphenol A in female DA/Han rats after a single i.v. and oral administration. » In : *Arch Toxicol* 74.8, p. 431-436.
- USAL, Marie et al. (2021). « Transgenerational metabolic disorders and reproduction defects induced by benzo[a]pyrene in *Xenopus tropicalis*. » In : *Environ Pollut* 269, p. 116109.
- USAL, Marie et al. (2022). « Exposure to a mixture of benzo[a]pyrene and triclosan induces multi-and transgenerational metabolic disorders associated with decreased female investment in reproduction in *Silurana (Xenopus) tropicalis*. » In : *Environ Pollut* 292.Pt B, p. 118418.

V

- VANCASSEL, S et al. (2007). « Hyperactivity in the rat is associated with spontaneous low level of n-3 polyunsaturated fatty acids in the frontal cortex. » In : *Behav Brain Res* 180.2, p. 119-126.
- VANDENBERG, Laura N (2014). « Low-dose effects of hormones and endocrine disruptors. » In : *Vitam Horm* 94, p. 129-165.

- VANDENBERG, Laura N et al. (2009). « Bisphenol-A and the great divide : A review of controversies in the field of endocrine disruption. » In : *Endocr Rev* 30.1, p. 75-95.
- VANDENBERG, Laura N et al. (2012). « Hormones and endocrine-disrupting chemicals : Low-dose effects and nonmonotonic dose responses. » In : *Endocr Rev* 33.3, p. 378-455.
- VANDER BORGHT, Mélodie et Christine WYNS (2018). « Fertility and infertility : Definition and epidemiology. » In : *Clin Biochem* 62, p. 2-10.
- VANDRESSA PERNONCINI, Karine et al. (2018). « Evaluation of reproductive toxicity in rats treated with triclosan. » In : *Reprod Toxicol* 75, p. 65-72.
- VERSTRAETE, Sofia G et al. (2018). « Bisphenol A increases risk for presumed non-alcoholic fatty liver disease in Hispanic adolescents in NHANES 2003-2010. » In : *Environ Health* 17.1, p. 12.
- VINCENTI, E et al. (1989). « Effects of halothane, enflurane and isoflurane on some energy-converting functions of isolated rat liver mitochondria. » In : *Agressologie* 30.9-10, p. 517-520.
- VO, Thuy T.B. et al. (2010). « Potential estrogenic effect(s) of parabens at the prepubertal stage of a postnatal female rat model. » In : *Reproductive Toxicology* 29.3, p. 306-316.

W

- WAHLANG, Banrida (2018). « Exposure to persistent organic pollutants : Impact on women's health. » In : *Rev Environ Health* 33.4, p. 331-348.
- WALDRON, H A (1973). « Hippocrates and lead. » In : *Lancet* 2.7829, p. 626.
- WALLEY, Sabrina N et Troy A ROEPKE (2018). « Perinatal exposure to endocrine disrupting compounds and the control of feeding behavior - An overview. » In : *Horm Behav* 101, p. 22-28.
- WAN, Yanjian et al. (2018). « Relationship between maternal exposure to bisphenol S and pregnancy duration. » In : *Environ Pollut* 238, p. 717-724.
- WANG, Kai, Zhenguo ZHAO et Wu JI (2019). « Bisphenol A induces apoptosis, oxidative stress and inflammatory response in colon and liver of mice in a mitochondria-dependent manner. » In : *Biomed Pharmacother* 117, p. 109182.

- WANG, Ying et Siegfried HEKIMI (2016). « Understanding ubiquinone. » In : *Trends Cell Biol* 26.5, p. 367-378.
- WEATHERLY, Lisa M et Julie A GOSSE (2017). « Triclosan exposure, transformation, and human health effects. » In : *J Toxicol Environ Health B Crit Rev* 20.8, p. 447-469.
- WEBER, AndréA et al. (2022). « Lactational delivery of triclosan promotes non-alcoholic fatty liver disease in newborn mice. » In : *Nat Commun* 13.1, p. 4346.
- WEI, Fang et al. (2021). « Parabens as chemicals of emerging concern in the environment and humans : A review. » In : *Sci Total Environ* 778, p. 146150.
- WELCH, Chloe et Kimberly MULLIGAN (2022). « Does bisphenol A confer risk of neurodevelopmental disorders ? What we have learned from developmental neurotoxicity studies in animal models. » In : *Int J Mol Sci* 23.5.
- WELSHONS, Wade V et al. (2003). « Large effects from small exposures. I. Mechanisms for endocrine-disrupting chemicals with estrogenic activity. » In : *Environ Health Perspect* 111.8, p. 994-1006.
- WOLD, Agnes (2016). *There is no evidence that 'endocrine disrupting chemicals' affect our health.* url : <https://endocrinesciencematters.org/no-evidence-endocrine-disrupting-chemicals-affect-health-agnes-wold/> [Février 2023].
- WORLD HEALTH ORGANIZATION (s. d.[a]). *World health organization - Diabetes.* url : <https://www.who.int/health-topics/diabetes> [Août 2022].
- (s. d.[b]). *World health organization - Infertility.* url : <https://www.who.int/health-topics/infertility> [Août 2022].
- (s. d.[c]). *World health organization - Obesity.* url : <https://www.who.int/health-topics/obesity> [Août 2022].
- (2012). *State of the science of endocrine disrupting chemicals - 2012.* Rapp. tech. World Health Organization.
- (2016). *The public health impact of chemicals : Knowns and unknowns.* Rapp. tech. World Health Organization.
- WU, Huan et al. (2021). « Bisphenol S perturbs Sertoli cell junctions in male rats via alterations in cytoskeletal organization mediated by an imbalance between mTORC1 and mTORC2. » In : *Sci Total Environ* 762, p. 144059.

X

XU, Xiaobin et al. (2019). « The effects of perinatal bisphenol A exposure on thyroid hormone homeostasis and glucose metabolism in the prefrontal cortex and hippocampus of rats. » In : *Brain Behav* 9.3, e01225.

XU, Xiaohong et al. (2012). « Gestational and lactational exposure to bisphenol-A affects anxiety- and depression-like behaviors in mice. » In : *Horm Behav* 62.4, p. 480-490.

Z

ZHANG, Dan-Hua, En-Xiang ZHOU et Zhu-Lin YANG (2017). « Waterborne exposure to BPS causes thyroid endocrine disruption in zebrafish larvae. » In : *PLoS One* 12.5, e0176927.

ZHANG, Jin et al. (2016). « Structure-based virtual screening protocol for in silico identification of potential thyroid disrupting chemicals targeting transthyretin. » In : *Environ Sci Technol* 50.21, p. 11984-11993.

ZHANG, L et al. (2012). « Leukemia-related chromosomal loss detected in hematopoietic progenitor cells of benzene-exposed workers. » In : *Leukemia* 26.12, p. 2494-2498.

ZHANG, Pei et al. (2018a). « P38/TRHr-dependent regulation of TPO in thyroid cells contributes to the hypothyroidism of triclosan-treated rats. » In : *Cell Physiol Biochem* 45.4, p. 1303-1315.

ZHANG, Yuqing et al. (2019). « Association between exposure to a mixture of phenols, pesticides, and phthalates and obesity : Comparison of three statistical models. » In : *Environment International* 123, p. 325-336.

ZHANG, Zhen et al. (2018b). « Subchronic bisphenol S exposure affects liver function in mice involving oxidative damage. » In : *Regul Toxicol Pharmacol* 92, p. 138-144.

ZHAO, Chunhua et al. (2019). « Discovery of potential genes contributing to the biosynthesis of short-chain fatty acids and lactate in gut microbiota from systematic investigation in *E. coli*. » In : *NPJ Biofilms Microbiomes* 5.1, p. 19.

-
- ZHOU, Rong et al. (2015). « Perinatal exposure to low-dose of bisphenol A causes anxiety-like alteration in adrenal axis regulation and behaviors of rat offspring : A potential role for metabotropic glutamate 2/3 receptors. » In : *J Psychiatr Res* 64, p. 121-129.
- ZHOU, Zheng, Jaclyn M GOODRICH et Rita S STRAKOVSKY (2020). « Mitochondrial epigenetics and environmental health : Making a case for endocrine disrupting chemicals. » In : *Toxicol Sci* 178.1, p. 16-25.
- ZOELLER, R Thomas et al. (2012). « Endocrine-disrupting chemicals and public health protection : A statement of principles from the endocrine society. » In : *Endocrinology* 153.9, p. 4097-4110.
- ZORRILLA, Leah M et al. (2009). « The effects of triclosan on puberty and thyroid hormones in male Wistar rats. » In : *Toxicol Sci* 107.1, p. 56-64.

Endocrine disruptors (ED) are exogenous compounds that disrupt hormonal regulation and the normal endocrine signaling systems, consequently affecting health and reproduction in animals and humans. The role of ED on reproductive system development, early embryonic development and puberty was mostly studied with a focus on ED interference with sex steroid hormones, while growing concerns also links ED to metabolic disorders. Moreover, it is newly widely accepted that the impact of ED on parents can also lead to the development of diseases on the offspring, as supported by the Developmental Origins of Health and Diseases theory (DOHaD). However, direct, inter-, and transgenerational impacts of an ED mixture at concentrations found in pregnant women were never evaluated *in vivo*. This work is exploring for the first time those problematics on a rat model.

Rats (males and females) were exposed from gamete to adult stage (F0 generation) to an ED mixture (Bisphenol S, Triclosan, Methylparaben) through drinking water at two environmental doses (low and high). Consequences of this exposure were studied on the directly exposed generation (F0) as well on the indirectly exposed generation (F1) and the never exposed transgenerational one (F3). For each generation, the impacts of ED on metabolism, reproduction as well as the impacts on the behavior and brain structure were evaluated.

F0 generation was found to be insulin resistant when exposed to the highest dose of ED mixture and transgenerational alteration of mitochondrial liver function and structure were found for both doses for all generation. Additionally, a disruption of the lipid metabolism pathways through generations was suggested with evidence in mRNA transcription. Furthermore, hyperactivity was found for the F0 generation at both doses, as well as transgenerational brain structural modification for all generation. Finally, a correlation between ED concentration exposure and female sterility was found on the directly exposed F0 generation.

Taken together, these results showed that an exposure to environmental concentrations of an ED mixture could have consequences on multiple physiological processes across generations. However, the underlying molecular mechanisms involved, and their interactions remain to be explored.

Key words: Endocrine disruptors, Metabolism, Mitochondria, Behavior, Reproduction

Les perturbateurs endocriniens (PE) sont des composés exogènes qui impactent les régulations hormonales ainsi que la signalisation endocrine physiologique, pouvant de ce fait entraîner des conséquences sur la santé et la reproduction chez l'Homme et la faune sauvage. L'impact des PE sur le développement du système reproducteur, le développement embryonnaire et la puberté a été majoritairement étudié notamment autour de l'impact des PE sur les hormones stéroïdiennes sexuelles, tandis que de nombreuses études suggèrent un lien entre PE et troubles métaboliques. De plus, il est nouvellement accepté qu'une exposition aux PE sur les parents pourraient entraîner des pathologies sur les générations suivantes, comme le suggère la théorie du « *Developmental Origins of Health and Diseases theory* » (DOHaD). Pourtant, les impacts directs, indirects et transgénérationnels d'un cocktail de PE à des concentrations retrouvées chez des femmes enceintes n'ont jamais été évalués *in vivo*. Cette thèse explore pour la première fois l'ensemble de ces problématiques sur un modèle de rat.

Les rats (mâles et femelles) ont été exposés par l'eau de boisson du stade gamète à adulte (génération F0) à un cocktail de PE (Bisphénols S, Triclosan, Méthylparabène) à deux doses environnementales (faible et forte). Les conséquences de cette exposition ont été étudiées sur la génération directement exposée (F0) ainsi que les générations indirectement (F1) et transgénérationnellement exposés (F3). Pour chaque génération, les impacts des PE sur le métabolisme, la reproduction ainsi que le comportement et les structures cérébrales ont été évalués.

Une insulino-résistance a été retrouvée pour la génération F0 exposée à la plus forte dose du cocktail de PE et une altération du fonctionnement et de la structure de la mitochondrie hépatique a été retrouvée pour les deux doses d'exposition pour l'ensemble des générations. De plus, des atteintes du métabolisme lipidique sur les différentes générations semblent être mises en évidence par le transcriptome hépatique. Egalement, une hyperactivité a été observée pour les deux doses de la génération F0, ainsi que des modifications transgénérationnelles de la structure du cerveau pour toutes les générations. Enfin, une corrélation entre les concentrations d'exposition aux PE et une stérilité féminine a été retrouvée pour la génération F0.

Dans l'ensemble, ces résultats suggèrent qu'une exposition à des concentrations environnementales d'un cocktail de PE pourrait entraîner des impacts multiples sur les différents systèmes physiologiques et sur plusieurs générations. Cependant, les mécanismes moléculaires de ces polluants et leurs interactions restent à être explorés.

Mots clés : Perturbateurs endocriniens, Métabolisme, Mitochondrie Comportement, Reproduction