Médecine de la Reproduction 2018 ; 20 (3) : 215-23

Qualité ovocytaire en fécondation *in vitro* et exposition aux pesticides

Oocyte quality in in vitro fertilization and pesticide exposure

Philippe Merviel[1,2]
Rosalie Cabry[3,4]
Karen Chardon[4]
Emmanuelle Lourdel[3]
Florence Scheffler[3,4]
Naima Mansouri[5]
Aviva Devaux[4,5]
Véronique Bach[4]
Henri Copin[5]
Moncef Benkhalifa[4,5]

[1] Service de gynécologie-obstétrique et médecine de la reproduction, CHRU Brest, France
[2] Université de Bretagne Occidentale, Brest, France
<philippe.merviel@chu-brest.fr>
[3] Centre d'assistance médicale à la procréation, CHU Amiens, France
[4] Laboratoire Peritox-Ineris, université Picardie Jules Verne, Amiens, France
[5] Laboratoire de biologie de la reproduction et cytogénétique, CHU Amiens, France

Résumé. Cet article fait le point sur l'effet des pesticides et d'autres polluants sur la qualité ovocytaire. Certains pesticides sont connus pour être des perturbateurs endocriniens, exerçant sur la fertilité divers effets, fonction du type de produit et du stade du développement ovarien. Ils sont en outre susceptibles de persister longtemps dans l'organisme, entraînant des troubles durant l'enfance ou à l'âge adulte. Nous avons étudié l'effet des pesticides dans un groupe de jeunes femmes prises en charge pour une fécondation *in vitro* (FIV) avec injection intracytoplasmique de spermatozoïde (ICSI) et dont les cohortes ovocytaires révélaient une très forte proportion d'ovocytes avec une zone centrale cytoplasmique de granulations (CLCG). Notre étude a révélé que le risque de fausses couches précoces du premier trimestre de la grossesse était dans ce cas risque multiplié par 3 (significatif). Cette donnée, ainsi que des anomalies de fécondation, de clivage et d'implantation ont été rapportées par d'autres auteurs. À l'avenir, une meilleure connaissance des produits incriminés et de la durée de l'exposition permettra de mieux définir leurs impacts sur la santé humaine.

Mots clés : pesticides, ovocyte, fausse couche spontanée, perturbateurs endocriniens

Abstract. The purpose of this article is to resume the effect of pesticides and other pollutants on oocyte quality. Some pesticides are known to be endocrine disruptors, with an impact on fertility depending on the type of product and the stage of ovarian development. In addition, they can persist for a long time in the body that is experiencing disorders during childhood or adulthood. We investigated the effect of pesticides in a group of young women supported in IVF-ICSI and whose oocyte cohorts revealed a very high proportion of oocytes with a central located granular cytoplasm (CLCG). Our study revealed a 3-fold (significant) risk of early miscarriage of the first trimester of pregnancy in this case. This data, as well as anomalies of fertilization, cleavage and implantation were also found by other authors. In the future, the best knowledge of the products involved and the duration of the exposure will help to better define their impacts on human health.

Key words: pesticides, oocyte, early miscarriage, endocrine disruptors

L'impact des pesticides sur la qualité ovocytaire en fécondation *in vitro* (FIV) a été peu étudié à ce jour. Certains pesticides sont connus pour interférer avec le système endocrinien ovarien (stéroïdogenèse) et thyroïdien, du fait d'une parenté chimique entre l'œstradiol et l'octylphénol ou le bisphénol A, et entre la thyroxine et le dichlorodiphényltrichloréthane (DDT) ou le polychlorobiphényl (PCB). Ainsi, l'atrazine, la cyperméthrine, le DDT, la dieldrine, le méthoxychlore (MXC) et la vinclozoline sont des perturbateurs endocriniens aux effets œstrogène-like. Les différents pesticides et autres produits chimiques sont rappelés dans le *tableau 1* [1]. Leur toxicité sur l'ovaire dépend du type de produit en cause et du stade de développement ovarien. On sait que le fœtus est exposé et particulièrement vulnérable aux pesticides, en raison de sa croissance rapide, de la sensibilité de ses organes en développement, de l'immaturité de ses voies métaboliques et de ses défenses enzymatiques. À terme, la destruction des follicules peut conduire à une insuffisance ovarienne définitive.

À ce jour, l'observation de la qualité ovocytaire au laboratoire d'assistance médicale à la procréation (AMP) est basée uniquement, en FIV avec micro-injection intracytoplasmique des spermatozoïdes (ICSI), sur l'aspect morphologique de l'ovocyte, qui ne reflète que très partiellement sa maturation et sa compétence

Médecine de la Reproduction

Tirés à part : P. Merviel

doi:10.1684/mte.2018.0711

Tableau 1. Pesticides et produits chimiques suspectés ou connus comme perturbateurs endocriniens (données extraites de Pocar *et al.* [1]).

Classes	
Herbicides et fongicides	
Acide dichlorophénoxyacétique (2,4-D)	Benomyl
Acide trichlorophénoxyacétique (2,4,5-T)	Mancozeb
Alachlor	Zineb
Amitrole	Complexe Metriam
Atrazine	Maneb
Métyribuzin	Ziram
Nitrofen	Tributylin
Trifluralin	Hexachlorobenzène
Insecticides	
Benzènehexachlorocyclohexane (B-HCH)	Oxychlordane
Méthoxychlor	Dicofol
Toxaphène	Heptachlor ou heptachlor époxide
DT et métabolites (DDE)	Dieldrin
Carbaryl	Parathion
Endosulfan	Méthomyl
Mirex	Lindane (Y-HCH)
Transnonachlor	Pyréthroïdes synthétiques
Chlordane	Chlordécone (Kepone®)
Nématocides	
Aldicarb	1,2-dibromo-3-chloropropane (DBCP)
Chimiques industriels	
Dioxines	De penta- à nonyl-phénols
Biphényls polychlorinatés (PCBs)	Phtalates
Polybrominate biphényls (PBBs), pentachlorophénol (PCP)	Styrènes

à être fécondé et à conduire à un développement embryonnaire. Ainsi, il est admis qu'un ovocyte en métaphase II de bonne qualité présente un cytoplasme modérément granuleux, sans vacuoles, avec un espace périvitellin fin, un globule polaire non fragmenté et une zone pellucide ronde, homogène et peu dense [2, 3]. Plusieurs auteurs ont rapporté que plus de la moitié des ovocytes récupérés présentaient une ou plusieurs anomalies [4, 5], comme une zone pellucide anormale, un espace périvitellin élargi, des vacuoles, des corps réfractiles, une augmentation de la granularité du cytoplasme, des agrégations du réticulum endoplasmique ou encore une fragmentation ou une dégénérescence du premier globule polaire (*figure 1*) [6].

Les ovocytes à zone centrale de cytoplasme granuleux

La notion de zone centrale de cytoplasme granuleux ovocytaire (CLCG, pour *central located granular cytoplasm*) a été définie par Serhal en 1997 [7] comme la présence de granulations centrales plus denses que le cytoplasme adjacent avec une délimitation nette. L'origine de ces granulations semble correspondre à des tubules et à des vésicules du réticulum endoplasmique – sous forme de clusters, selon Otsuki [8] (sERC pour *smooth endoplasmic reticulum cluster*) – et entourés d'une population de mitochondries selon Sa [9] (aSERT pour *large aggregate of tubular smooth endoplasmic reticulum*). Lorsque plus de 50 % du cytoplasme est occupé par ces granulations avec une apparence de cratère à bords nets, l'aspect est dit sévère. Dans les autres cas (moins de 50 % du cytoplasme et bords peu différenciés), la cotation est dite légère. Kahraman [10] rapporte que cet aspect peut être présent dans les ovocytes au cours de plusieurs cycles successifs et que les femmes peuvent avoir des cohortes contenant plus ou moins d'ovocytes à cytoplasme granuleux. La fréquence des cohortes ovocytaires avec CLCG est variable selon les études : 2,72 % pour Kahraman [10], 4,2 % (63,1 % des ovocytes MII) pour Balaban [11], 9,4 % des cas pour Otsuki (34,4 % des ovocytes MII) [8], 6,2 % pour Ebner [5] et 5,3 % pour Rienzi (31,7 % d'ovocytes à cytoplasme granuleux) [12]. Le rôle du cytoplasme ovocytaire concerne le développement embryonnaire précoce (de la fécondation au troisième jour du développement), et toute anomalie de celui-ci (réticulum endoplasmique participant à la traduction des ARN maternels et/ou mitochondries) peut influer sur la cinétique du clivage embryonnaire précoce.

Étude clinique sur les ovocytes à zone centrale de cytoplasme granuleux en fécondation *in vitro*

Nous avons décidé de mener une étude sur les ovocytes à zone centrale de cytoplasme granuleux en FIV + ICSI [13], suite à l'observation, en 2010, d'une baisse des résultats en termes de grossesses évolutives du centre d'AMP du CHU d'Amiens. Nous avions en effet mis en place une analyse longitudinale de nos résultats globaux (ensemble des tentatives) et de ceux concernant les « top tentatives » (définies par une première ou une deuxième tentative pratiquée chez des femmes de moins de 35 ans, avec un ou deux embryons de top qualité transférés). En 2009, nos résultats globaux en termes de grossesses évolutives étaient de 32,9 %/transfert et de 50 %/transfert pour les top tentatives. Ces valeurs n'étaient plus, en 2010 que de 23,9 et 38 %/transfert, respectivement. Or, la seule cause envisageable était une augmentation de la proportion de femmes présentant des cohortes ovocytaires avec

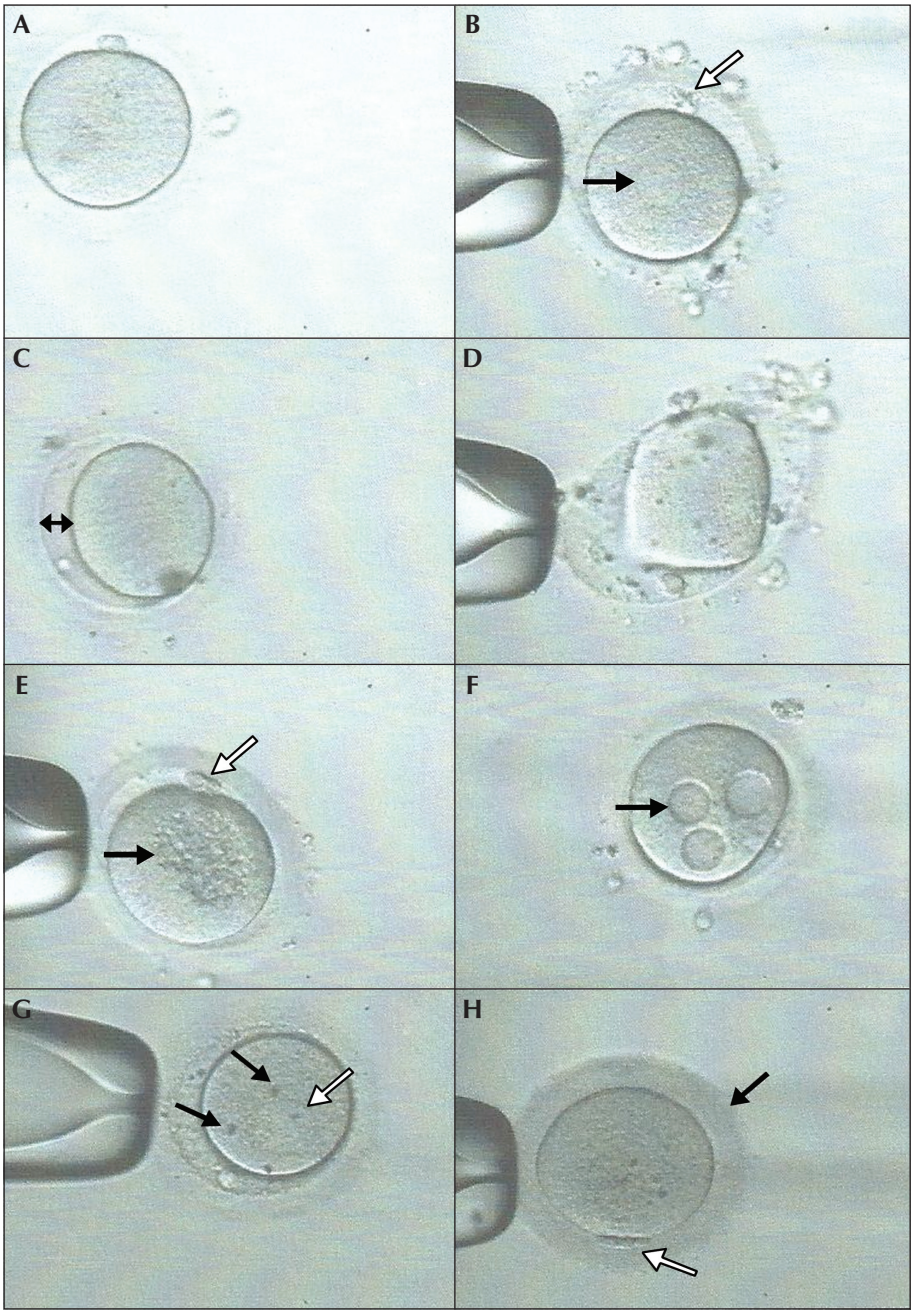

Figure 1. Anomalies morphologiques ovocytaires observées dans l'étude de Cota *et al.* [6]. **A)** aspect ovocytaire normal ; **B)** agrégation du réticulum endoplasmique et globule polaire anormal ; **C)** espace périvitellin élargi ; **D)** forme ovocytaire anormale ; **E)** granulation cytoplasmique centrale et globule polaire anormal ; **F)** vacuoles cytoplasmiques ; **G)** agrégation du réticulum endoplasmique et corps réfractiles ; **H)** zone pellucide sombre et globule polaire anormal

CLCG. La situation du centre d'AMP du CHU d'Amiens en Picardie, région agricole où les pesticides sont abondamment utilisés, nous a incités à rechercher une cause environnementale (via les pesticides) à la forte présence d'ovocytes avec CLCG chez certaines femmes et à étudier les résultats de la FIV avec ICSI chez celles-ci. Cette étude a été faite en collaboration avec le laboratoire Peritox-Ineris (travaillant sur l'impact de l'environnement en santé humaine) de l'université Picardie-Jules Verne d'Amiens. En Picardie, 91 % des 4 288 tonnes de pesticides utilisés le sont dans l'agriculture (insecticides, herbicides, fongicides et rodenticides) ; les autres (les biocides) sont utilisés dans

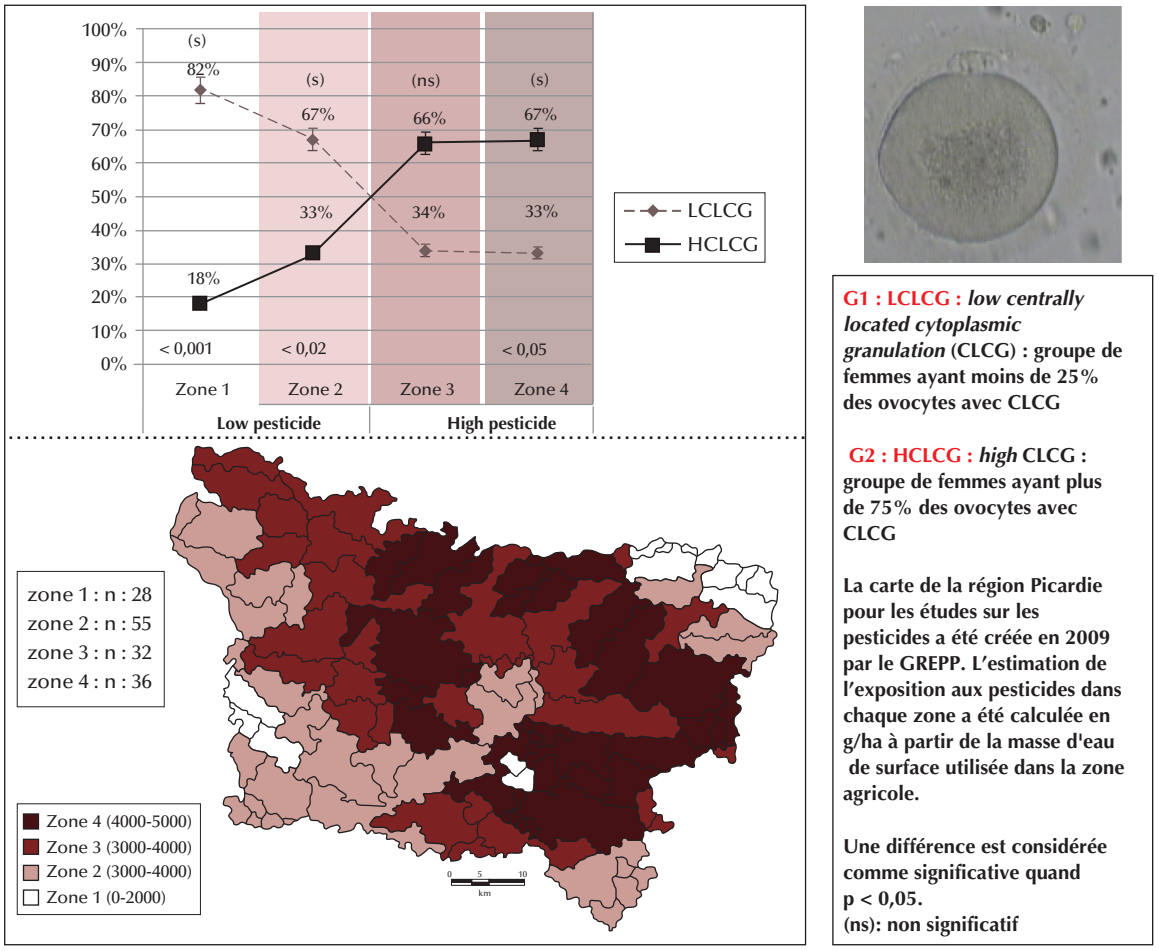

Figure 2. Corrélations entre la fréquence des ovocytes avec CLCG et l'exposition aux pesticides en Picardie (Données extraites de l'article de Merviel *et al.* [13]).

le traitement du bois et des textiles, ainsi que le milieu hospitalier (désinfection).

Notre étude a porté sur deux groupes de femmes de moins de 35 ans, prises en charge pour ICSI après recueil d'une cohorte ovocytaire d'au moins cinq ovocytes. Le groupe 1 était constitué de quatre-vingt-trois femmes chez qui moins de 25 % des ovocytes de la cohorte présentaient une CLCG sévère ; le groupe 2 de soixante-huit femmes chez qui ce type d'ovocyte représentait plus de 75 % de la cohorte. Dans cette étude, la fréquence des cohortes ovocytaires avec plus de 75 % de CLCG était particulièrement élevée : 21,1 % (68/321 ponctions folliculaires en vue d'ICSI chez des femmes de moins de 35 ans durant la même période d'étude), ce qui nous a fait suspecter un facteur environnemental. Outre les résultats de la prise en charge en ICSI, nous nous sommes également intéressés à la profession des femmes et à leur lieu d'habitation. Étaient considérés comme métiers « à risque » les agricultrices ou femmes d'agriculteur, les paysagistes, les infirmières et aides-soignantes, les femmes de ménage, les personnels des industries du bois et du textile. L'imprégnation aux pesticides du lieu d'habitation a été évaluée par la quantité de substances actives issues des pesticides retrouvées dans les masses d'eau superficielles, exprimée en grammes/hectare de surface agricole utile, à partir d'une carte communale de la région Picardie établie en 2009 par le groupe régional des études phytosanitaires de Picardie (Grepp). Ces données se présentaient comme suit : treize communes présentaient de 0 000 à 2 000 g/ha, vingt-neuf de 2000 à 3 000 g/ha, vingt-cinq de 3000 à 4000 g/ha et vingt et une de 4000 à 5000 g/ha.

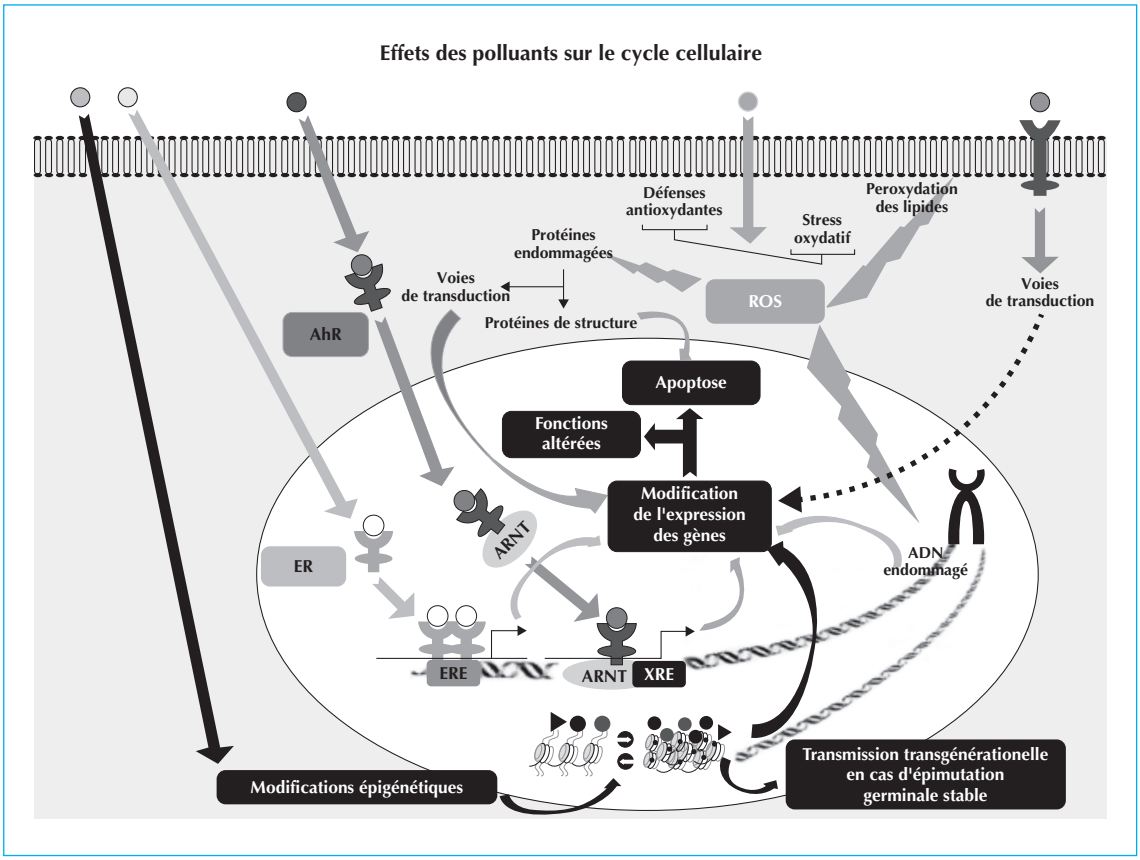

Figure 3. Mécanismes d'action cellulaire des différents polluants, dont les pesticides (données extraites de Vabre *et al.* [21]). AhR : récepteur des hydrocarbures aromatiques ; ER : récepteur aux œstrogènes ; ROS : radicaux libres de l'oxygène ; ARNT : transporteur nucléaire de l'AhR ; ERE : élément de réponse aux œstrogènes ; XRE : élément de réponse aux xénobiotiques

Nous avons montré que les paramètres préthérapeutiques des couples pris en charge étaient comparables entre les deux groupes. Nous avons observé une différence significative entre les deux groupes concernant le taux de fécondation et le taux de clivage (66,5 % dans le groupe 1 *versus* 49,1 % pour le groupe 2 ; $p < 0,05$), bien que le nombre moyen d'ovocytes recueillis et celui d'ovocytes matures (métaphase II) soient identiques. Si le nombre d'embryons transférés et le taux de grossesse clinique par transfert n'étaient pas différents, le taux de grossesse évolutive et le taux d'accouchement par transfert dans le groupe 2 étaient en revanche significativement inférieurs à ce qu'ils étaient dans le groupe 1 (respectivement 14,5 et 12,7 % pour le groupe 2 *versus* 31,6 et 30,3 % dans le groupe 1 ; $p < 0,01$). Après analyse multivariée, l'odds-ratio des fausses couches spontanées (FCS) du premier trimestre de la grossesse était de 3,1 (IC95% : 2,1-4,1 ; $p < 0,01$) dans le groupe 2. Le nombre d'embryons congelés dans le groupe 2, significativement moins important que dans le groupe 1 ($1,2 \pm 0,7$ *versus* $1,8 \pm 0,5$; $p < 0,0001$), accentue la différence de taux cumulés de grossesse évolutive entre les deux groupes.

Notre étude n'a pas observé d'impact du métier sur la survenue d'une cohorte plus importante d'ovocytes avec une CLCG sévère (12 *versus* 17,6 % de métiers jugés à risque dans les groupe 1 et 2, respectivement ; $p > 0,05$). À l'inverse, il existe une différence significative lorsque l'on corrèle le lieu d'habitation des couples à la quantité de substances actives issues des pesticides relevées dans les masses d'eau superficielles. La *figure 2* rapporte les différents résultats en fonction des lieux d'habitation, avec une différence significative entre les groupes 1 et 2 dans les zones 1 ($p < 0,001$), 2 ($p < 0,02$) et 4 ($p < 0,05$).

Analyse de la littérature

D'après notre étude, la présence d'une cohorte où plus de 75 % des ovocytes présentent une CLCG sévère est responsable d'une baisse significative du taux de fécondation et de clivage, et d'une multiplication par 3 du nombre de FCS du premier trimestre de la grossesse. Figueira [14] (OR : 1,22 [IC95 % 1,03-1,45] ; $p < 0,05$) et Balaban [11] observent un impact de la granularité cytoplasmique sur

les taux de fécondation, et Ebner [5] un taux de fécondation (58,9 %) et de blastulation (44 %) significativement inférieur ($p < 0,01$). Rienzi [12] note une différence significative de la morphologie des pronuclei selon qu'il existe ou non une CLCG (OR : 2,65 ; IC95% : 1,45-4,85 ; p : 0,002), ainsi que de la qualité embryonnaire (OR : 2,26 ; IC95% : 1,25-4,08 ; p : 0,007). Balaban [11] et Ten [15] rapporte quant à eux un effet sur la qualité embryonnaire. Ainsi, dans le calcul global du score d'anomalies ovocytaires de Rienzi [12], la présence d'une CLCG est associé au score le plus élevé (2,7), contre 1,4 pour l'élargissement de la zone périvitelline, 2 pour l'anomalie du premier globule polaire et 2,1 pour la présence de vacuoles. À l'inverse, d'autres auteurs ne rapportent pas d'effet de l'existence de CLCG sur les taux de fécondation [16, 17] ou sur la morphologie embryonnaire [4].

L'impact des ovocytes avec CLCG semble être déterminant sur l'implantation embryonnaire et l'évolution de la grossesse. Ainsi, Schmutzler [18] a rapporté des taux de grossesse variables en fonction de la granularité du cytoplasme, et Alikani [16] a montré une augmentation des FCS lorsqu'un cytoplasme granuleux est observé. Otsuki [8] et Ebner [5] constatent également une augmentation des FCS (grossesse biochimique pour Otsuki) en cas de CLCG. Pour Kahraman [10], la baisse de l'implantation et le fort taux de FCS (54,5 %) en cas de CLCG seraient en rapport avec une perturbation des organites cytoplasmiques (réticulum endoplasmique et mitochondries), un stress oxydatif augmenté et une anomalie du fuseau de division. Cet auteur a réalisé une analyse cytogénétique (chromosomes X, Y, 13, 18 et 21) des embryons chez neuf des trente-neuf cycles (trente-trois protocoles longs agoniste de la gonadolibérine [GnRH] et six protocoles courts) présentant plus de 50 % d'ovocytes avec CLCG. Le taux d'aneuploïdie embryonnaire est de 52,2 % en cas d'ovocytes avec CLCG sévère, contre des valeurs de 15 à 20 % généralement admises dans les embryons issus d'ovocytes normaux [2]. Pour Kahraman [10], cette augmentation des aneuploïdies pourrait être due à la prise en charge d'anomalies très sévères de la spermatogenèse et à l'âge avancé des femmes, ce qui n'est pas le cas dans notre étude puisque nous avons exclu les femmes de plus de 35 ans, les oligoasthénotératospermies sévères et les cas de fragmentation importante de l'ADN des spermatozoïdes.

Dans l'étude d'Otsuki [8], le nombre d'ovocytes avec CLCG était en relation avec le taux d'œstradiolémie le jour du déclenchement (différence significative à $p < 0,05$) mais pas avec le taux de progestérone. Kahraman [10] confirme cette relation avec l'hyperœstradiolémie. Pour Sa [9], l'aspect de CLCG pourrait être la conséquence d'une hyperstimulation ovarienne, car cette anomalie n'a jamais été observée dans les ovocytes aspirés à partir de follicules antraux lors de cycles non stimulés. Ebner [19] a montré une relation entre la présence de CLCG et le taux d'AMH (6,4 % si AMH élevée *versus* 1,7 % en cas d'AMH normale), la dose totale d'hormone folliculostimulante (FSH) ($p < 0,01$) et la durée de la stimulation ($p < 0,001$). Cette hyperœstradiolémie pourrait conduire à une apoptose ovocytaire, d'où l'apparition d'une CLCG et d'une aneuploïdie (18 à 37 %), sans perturbation de l'organisation du fuseau méiotique, pouvant ainsi expliquer l'absence d'anomalie de fécondation et de clivage observée avec ces ovocytes, comme l'a montré Munné [20]. Pour Rienzi [12], le type de protocole utilisé (agoniste, antagoniste ou *mild stimulation*) n'affecte pas le taux d'anomalies ovocytaires, mais il existe une corrélation significative entre le taux d'anomalies et la dose totale de FSH utilisée au cours de la stimulation, et inversement significative avec le nombre d'ovocytes en métaphase II récupérés. Cota [6] ne rapporte pas non plus d'impact des protocoles agoniste ou antagoniste de la GnRH sur les anomalies du cytoplasme ovocytaire (OR : 1,05 ; IC95% : 0,61-1,80), et en particulier en cas de CLCG (OR : 1,06 ; IC95% : 0,48-2,44). Dans notre étude, la proportion de cycles avec agoniste ou antagoniste de la GnRH n'est pas différente dans les deux groupes.

Relation entre la qualité ovocytaire et l'exposition aux pesticides

Notre étude a mis en évidence un risque majoré de FCS chez les femmes présentant une cohorte ovocytaire avec plus de 75 % d'ovocytes avec CLCG, ainsi qu'un lien entre cette évolutivité et l'imprégnation aux pesticides. La carte de la Picardie du GREPP ne permet pas de déterminer quel type de pesticide est utilisé, ni s'il s'agit d'une exposition aiguë ou chronique. Le *tableau 2* et la *figure 3*, issus de l'article de Vabre [21], résument les principaux effets des pesticides et autres polluants chez l'animal et l'espèce humaine, ainsi que leurs mécanismes d'action. On retrouve ces différents produits dans la vie courante :

– les phtalates : plastiques flexibles, emballages alimentaires, poche de perfusion médicale, vernis, parfum d'ambiance, produits d'entretien, etc.,

– les retardateurs de flammes bromés : éthers diphényliques polybromés dans les textiles et matelas,

– les parabènes : cosmétiques, filtres à ultraviolets, produits solaires, conservateurs alimentaires,

– les dioxines issues des incinérateurs et des cheminées,

– les PCB : contaminants industriels,

– le DDT et le DDE des insecticides et des pesticides,

– le triclosan : dentifrice et produits d'entretien,

– les nonylphénols : détergents à usage domestique et industriel,

– le bisphénol A : emballages alimentaires, revêtement intérieur des cannettes et boîtes de conserve, papier thermique, mastic dentaire etc.

Tableau 2. Effets chez l'animal et dans l'espèce humaine des différents polluants, dont les pesticides (données extraites de Vabre *et al.* [21])

Pesticides	**Méthodes**	**Résultats**
Zana, *Endocrinol* 2009	Rate, MXC (G)	> méthylation ERβ, > ADN méthyltransférase 3b
Park, *Env Tox Pharm* 2014	Souris, simazine (G)	< poids ovaires, > apoptose CG
El-Sharkawy, *Exp Tox Pathol* 2014	Rate, MXC ± propolis (antioxydant)	< poids ovaires, > apoptose F primaires, secondaires et antraux, < statut antioxydant ovaires, > peroxydation lipides
Satar, *Eur Rev Med Pharm* 2015	Rate, méthylparathion	Altération stroma ovarien, apoptose
Kotil, *Exp Tox Pathol* 2015	Rate, perméthrine	Noyaux picnotiques, chromatine condensée, mitochondries
Farr, *Am J Epidemio* 2006	**Humain**, vie et travail à la campagne États-Unis	> âge médian de la ménopause de 3 à 5 ans selon pesticides
Phtalates	**Méthodes**	**Résultats**
Xu, *Toxicol Lett* 2010	Rate, B(a)P et DEHP	< follicules primordiaux, primaires et secondaires, apoptose CG
Moyer, *Reprod Toxicol* 2012	Souris, MEHP (G)	< vie reproductive de 1 mois
Li, *Env Toxicol Pharm* 2012 ; Li, *Mol Biol Reprod* 2014 ; Li, *PLOS* 2016	Souris, DEHP Souris, DEHP (G) Souris, DEHP	Apoptose CG Méthylation ovocytes F1 et F2 < follicules antraux, ROS, apoptose
Zhang, *Env Mol Mut* 2013 ; Zhang, *Rep Fert Dev* 2015	Souris, DEHP Souris, DEHP (G)	< follicules primordiaux, méthylation < pool folliculaire, méthylation
Hannon, *Biol Reprod* 2014 ; Hannon, *Toxicol Sci* 2016	Souris, DEHP Souris, DEHP	< Follicules primordiaux > BAX/BCL2, < Follicules primordiaux
Niermann, *Rep Tox* 2015	Souris, DEHP (G)	> délai de reproduction de 5 j
Sen, *Rep Tox* 2015	Souris, DBP	< follicules antraux, apoptose
Messerlian, *HR* 2016	**Humain**, phtalate U, CFA	< CFA
Bisphénol A	**Méthodes**	**Résultats**
Rodriguez, *Rep Tox* 2010	Souris, BPA	< follicules primordiaux, prolifération CG
Zhang, *Mol Biol Rep* 2012	Souris, BPA (G)	< follicules primordiaux, méiose
Li, *Rep Tox* 2014	Souris, BPA	< poids, < F primordiaux, < F primaires et pré-antraux, apoptose
Berger, *Rep Tox* 2015	Souris, BPA (G)	< follicules pour F1, altérations géniques

< : diminution ; > : augmentation ; ER : récepteur aux œstrogènes ; F1, F2 : 1re et 2e génération ; CFA : compte des follicules antraux ; MXC : méthoxychlore ; B(a)P : benzo(a)pyrène ; DEHP : di(2-éthylhexyl) phtalate ; MEHP: mono(2-éthylhéxyl) phtalate, DBP: dibuthyl-phtalate ; F: follicule ; CG: cellules de la granulosa ; (G) : durant gestation ; IOP : insuffisance ovarienne prématurée ; AhR : récepteur des hydrocarbures aromatiques

Chez la femme, l'exposition aux pesticides altère la folliculogenèse (via les cellules de la granulosa et de la thèque [22]), induit des aberrations méiotiques (aneuploïdie) et conduit à l'atrésie folliculaire. Le DDT, par exemple, stimule l'aromatase et agit en synergie avec la FSH, entraînant une élévation prématurée de l'œstradiol qui est impliqué dans la maturation ovocytaire. Les ovocytes les plus touchés par un environnement toxique sont ceux qui sont au stade de maturation préméiotique. Arbuckle [23], au Canada, a montré une augmentation des FCS avant douze semaines d'aménorrhée suite à une exposition aux pesticides – ce qui n'a pas été observé dans l'étude de Willis, menée en Californie [24]. Récemment, Al-Hussaini [25] a étudié, chez quatre-vingt-quatorze femmes égyptiennes de 20 à 38 ans prises en charge en ICSI, l'impact des concentrations dans le liquide folliculaire de pesticides organochlorés (lindane et DDT), d'organophosphates (chlorpyriphos, diazinon et malathion), de pyréthroïdes (bioalléthrine et β-cyfluthrine) et de quatre PCB (28, 52, 138 et 180). Il ressort de son étude que tous ces produits

Tableau 2. (*Suite*)

Autres polluants	Résultats
Phyto-œstrogènes	Sénescence de la fonction ovarienne, dysfonction de la folliculogenèse, apoptose des CG, < pouvoir antioxydant, atteinte axe hypothalamohypophysaire
Hydrocarbures polyaromatiques (PAH)	Dysfonction ovarienne (AhR)
Dioxines	Sénescence ovarienne et risque > de ménopause
Polychlorobiphényl (PCB)	< poids ovarien et atrésie folliculaire
Composés perfluorés	< âge de la ménopause
Retardateur de flamme	Altération de la folliculogenèse
Protection UV : 2-hydroxy-4 méthoxybenzène (HMB)	Altération de la folliculogenèse à forte dose
2-bromopropane	Augmentation des IOP

< : diminution ; > : augmentation ; ER : récepteur aux œstrogènes ; F1, F2 : 1re et 2e génération ; CFA : compte des follicules antraux ; MXC : méthoxychlore ; B(a)P : benzo(a)pyrène ; DEHP : di(2-éthylhexyl) phtalate ; MEHP: mono(2-éthylhéxyl) phtalate, DBP: dibuthyl-phtalate ; F: follicule ; CG: cellules de la granulosa ; (G) : durant gestation ; IOP : insuffisance ovarienne prématurée ; AhR : récepteur des hydrocarbures aromatiques

agissent négativement sur l'épaisseur endométriale, et que certains ont un effet sur le nombre d'ovocytes recueillis (5/12), leur fécondation et leur clivage (3/12), ou sur les taux d'implantation embryonnaire (5/12).

De plus, issus de certains pesticides, les perturbateurs endocriniens peuvent également agir négativement sur la programmation épigénétique des ovocytes, avec des effets au cours de la période intra-utérine (9-20e semaine) ou durant la vie adulte. Ainsi, du fait de leur persistance à long terme dans les tissus, les pesticides ont été impliqués dans les troubles de l'apprentissage et de l'attention, la survenue d'hypospades et dans certaines obésités durant l'enfance. Dans l'étude d'Otsuki [8], un des enfants a présenté un syndrome de Beckwith-Wiedemann, maladie d'empreinte résultant d'une mutation ou d'un désordre épigénétique affectant le chromosome 11p15.5. Les modifications épigénétiques jouent un rôle important dans la gamétogenèse, via la méthylation de l'ADN ou les ARN messagers qui modifient la séquence d'expression de l'ADN. Ces anomalies pourraient également entraîner des perturbations du signal calcique au sein du cytoplasme, et ainsi être responsables de perturbations de la fécondation, du développement embryonnaire et de l'implantation. Il n'y a pas de publication reliant les ovocytes avec CLCG à des défauts d'empreinte génétique ; il semble cependant nécessaire d'analyser la descendance de ces femmes pour établir s'il y a ou non un lien entre ces anomalies cytoplasmiques et les risques épigénétiques.

Conclusions

La France est le troisième consommateur mondial et le premier en Europe de pesticides, dont on connaît les avantages dans l'agriculture mais dont notre étude montre l'impact sur le cytoplasme ovocytaire et l'évolution des grossesses. L'effet de ces produits sur les gamètes *in utero* n'a pu être recherché en raison de l'absence de données sur le lieu de naissance de ces femmes présentant une forte proportion d'ovocytes avec CLCG. Il nous paraît essentiel de poursuivre ces travaux sous forme d'études prospectives contrôlées, en tenant compte de la contamination réelle de ces femmes par les pesticides.

Liens d'intérêt : Les auteurs déclarent n'avoir aucun lien d'intérêt en rapport avec cet article.

Références

1. Pocar P, Brevini TA, Fischer B, Gandolfi F. The impact of endocrine disruptors on oocyte competence. *Reproduction* 2003 ; 125 : 313-25.

2. Van Blerkom J. Occurrence and developmental consequences of aberrant cellular organization in meiotically mature human oocytes after exogenous ovarian hyperstimulation. *J Electron Microsc Tech* 1990 ; 16 : 324-46.

3. Veeck LL. Oocyte quality and assisted conception. *Acta Eur Fertil* 1992 ; 23 : 275-88.

4. De Sutter P, Dozortsev D, Qian C, Dhont M. Oocyte morphology does not correlate with fertilization rate and embryo quality after intracytoplasmic sperm injection. *Hum Reprod* 1996 ; 11 : 595-7.

5. Ebner T, Moser M, Tews G. Is oocyte morphology prognostic of embryo developmental potential after ICSI? *Reprod Biomed Online* 2006 ; 12 : 507-12.

6. Cota AM, Oliveira JB, Petersen CG, *et al*. GnRH agonist *versus* GnRH antagonist in assisted reproduction cycles: oocyte morphology. *Reprod Biol Endocrinol* 2012 ; 10 : 33. doi: 10.1186/1477-7827-10-33.

7. Serhal PF, Ranieri DM, Kinis A, Marchant S, Davies M, Khadum IM. Oocyte morphology predicts outcome of intracytoplasmic sperm injection. *Hum Reprod* 1997 ; 12 : 1267-70.

8. Otsuki J, Okada A, Morimoto K, Nagai Y, Kubo H. The relationship between pregnancy outcome and smooth endoplasmic reticulum clusters in MII human oocytes. *Hum Reprod* 2004 ; 19 : 1591-7.

9. Sa R, Cunha M, Silva J, *et al*. Ultrastructure of tubular smooth endoplasmic reticulum aggregates in human metaphase II oocytes and clinical implications. *Fertil Steril* 2011 ; 96 : 143-9.

10. Kahraman S, Yakin K, Donmez E, *et al*. Relationship between granular cytoplasm of oocytes and pregnancy outcome following intracytoplasmic sperm injection. *Hum Reprod* 2000 ; 15 : 2390-3.

11. Balaban B, Urman B, Sertac A, Alatas C, Aksoy S, Mercan R. Oocyte morphology does not affect fertilization rate, embryo quality and implantation rate after intracytoplasmic sperm injection. *Hum Reprod* 1998 ; 13 : 3431-3.

12. Rienzi L, Vajta G, Ubaldi F. Predictive value of oocyte morphology in human IVF: a systematic review of the literature. *Hum Reprod Update* 2010 ; 17 : 34-45.

13. Merviel P, Cabry R, Chardon K, *et al*. Impact of oocytes with CLCG on ICSI outcomes and their potential relation to pesticide exposure. *J Ovarian Res* 2017 ; 10 : 42.

14. Figueira RC, Braga DP, Semiao-Francisco L, Iaconelli Jr. A, Borges Jr. E. Oocyte yield and dysmorphisms as indicators of biological efficiency in intracytoplasmic sperm injection cycles. *Hum Fertil (Camb)* 2011 ; 14 : 41-7.

15. Ten J, Mendiola J, Vioque J, de Juan J, Bernabeu R. Donor oocyte dysmorphisms and their influence on fertilization and embryo quality. *Reprod Biomed Online* 2007 ; 14 : 40-8.

16. Alikani M, Palermo G, Adler A, Bertoli M, Blake M, Cohen J. Intracytoplasmic sperm injection in dysmorphic human oocytes. *Zygote* 1995 ; 3 : 283-8.

17. Setti AS, Figueira RC, Braga DP, Colturato SS, Iaconelli Jr. A, Borges Jr. E. Relationship between oocyte abnormal morphology and intracytoplasmic sperm injection outcomes: a meta-analysis. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 2011 ; 159 : 364-70.

18. Schmutzler AG, Acar-Perk B, Weimer J, *et al*. Oocyte morphology on day 0 correlates with aneuploidy as detected by polar body biopsy and FISH. *Arch Gynecol Obstet* 2014 ; 289 : 445-50.

19. Ebner T, Moser M, Shebl O, Sommerguber M, Tews G. Prognosis of oocytes showing aggregation of smooth endoplasmic reticulum. *Reprod Biomed Online* 2008 ; 16 : 113-8.

20. Munné S, Ary J, Zouves C, *et al*. Wide range of chromosome abnormalities in the embryos of young egg donors. *Reprod Biomed Online* 2006 ; 12 : 340-6.

21. Vabre P, Gatimel N, Moreau J, *et al*. Environmental pollutants, a possible etiology for premature ovarian insufficiency: a narrative review of animal and human data. *Environ Health* 2017 ; 16 : 37.

22. Marques-Pinto A, Carvalho D. Human infertility: are endocrine disruptors to blame? *Endocr Connect* 2013 ; 2 : R15-29.

23. Arbuckle TE, Lin Z, Mery LS. An exploratory analysis of the effect of pesticide exposure on the risk of spontaneous abortion in an Ontario farm population. *Environ Health Perspect* 2001 ; 109 : 851-7.

24. Willis WO, de Peyster A, Molgaard CA, Walker C, MacKendrick T. Pregnancy outcome among women exposed to pesticides through work or residence in an agricultural area. *J Occup Med* 1993 ; 35 : 943-9.

25. Al-Hussaini TK, Addelaleem AA, Elnashar I, *et al*. The effect of follicular fluid pesticides and polychlorinated biphenyls concentrations on intracytoplasmic sperm injection (ICSI) embryological and clinical outcome. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 2018 ; 220 : 39-43.