



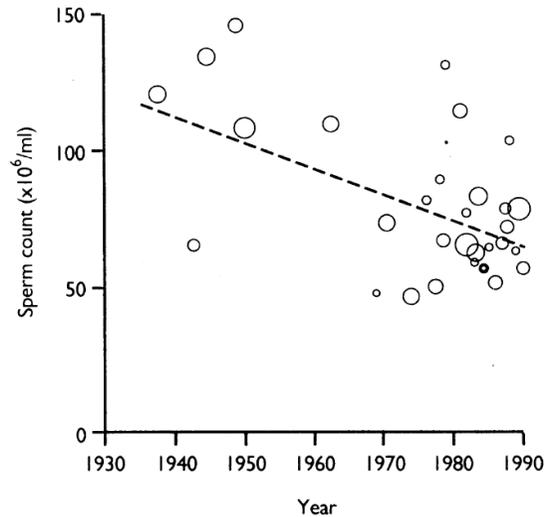
KALLISTEM

Méthode d'évaluation *in vitro* de la toxicité potentielle de différentes eaux sur la spermatogenèse

Guillaume Martin, le 08/07/2014

Introduction

La **baisse de la fertilité masculine** est un fait avéré :



Le nombre de spermatozoïdes par éjaculat a diminué de 50% en 50 ans (Carlsen 1992).

Résultat confirmé en France par plusieurs études récentes (Spingart 2011, Geoffroy-Siraudin 2012).



Introduction

L'eau potable peut contenir des traces de nombreuses molécules toxiques

(DGS 2013, ANSES 2011, ARS 2012, ONEMA 2011)



- Pesticides : atrazine, chloredecone, métolachlore...
- Résidus médicamenteux : antiépileptiques, anxiolytiques...
- Métaux lourds : plomb, aluminium...
- Stéroïdes : oestrogènes naturels ou de synthèse
- Autres : phtalates, nitrates, solvants chlorés...



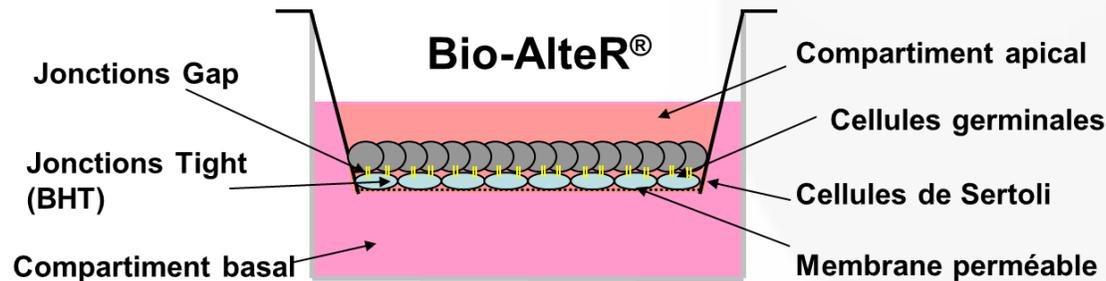
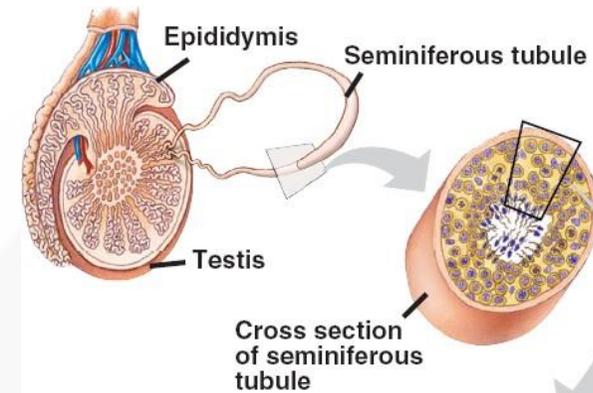
Modifications (activation ou inhibition) de différents processus physiologiques

Les effets de ces molécules peuvent se potentialiser (**effet cocktail**) (Casals-Casas 2011).

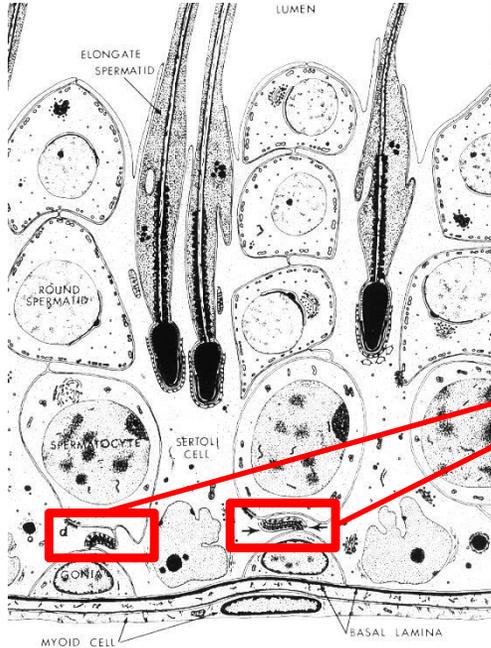
- **Comparer l'effet de différentes eaux sur la spermatogenèse.**
- **Déterminer l'effet physio-toxicologique "global" de l'eau plutôt que d'une molécule "isolée".**

Culture primaire de tubes séminifères

de rats Sprague Dawley juvéniles sur 20 jours



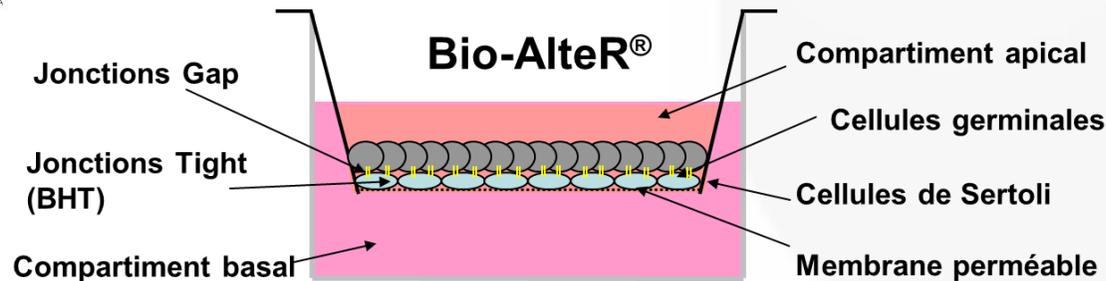
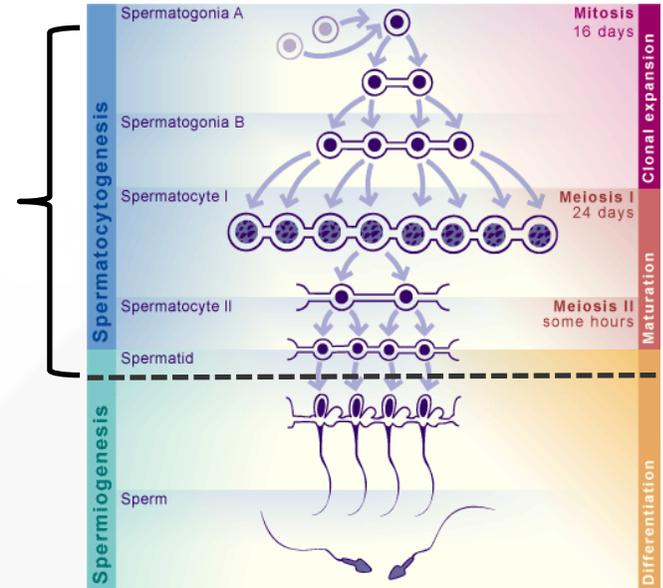
Matériel & Méthodes



(Russel, 1990)

80% de la spermatogenèse réalisée *in vitro*

Jonctions "Tight"
Reformation de la barrière hémato-testiculaire *in vitro*



Différentes eaux testées à une concentration finale de 80% (v/v) :

- **Eau Contrôle :** Eau Versol
- **Eau 1 :** Eau du robinet 1
- **Eau 2 :** Eau du robinet 2
- **Eau 3 :** Eau en bouteille plastique 3
- **Eau 4 :** Eau en bouteille plastique 4



Différentes analyses réalisées :

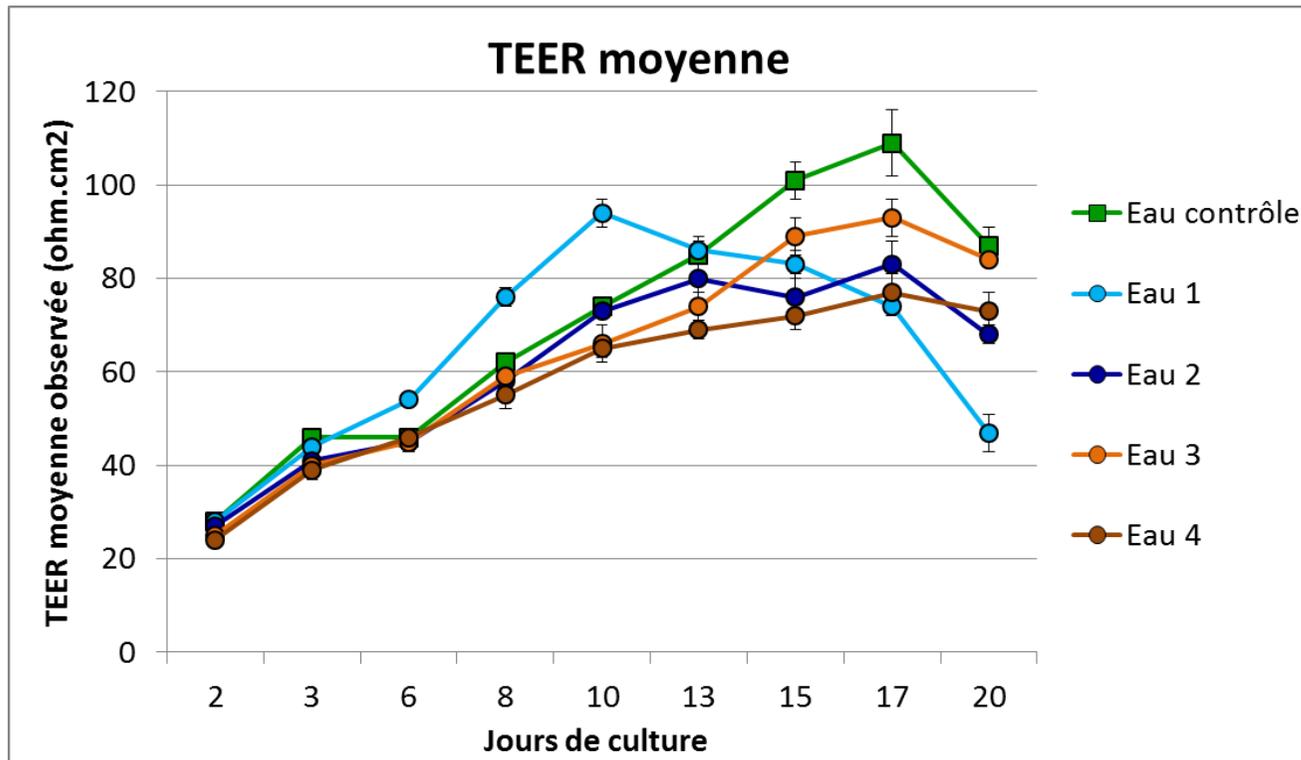
- Evaluation de l'intégrité de la barrière hémato-testiculaire



Mesure de la **TEER** (Trans Epithelial Electric Resistance)

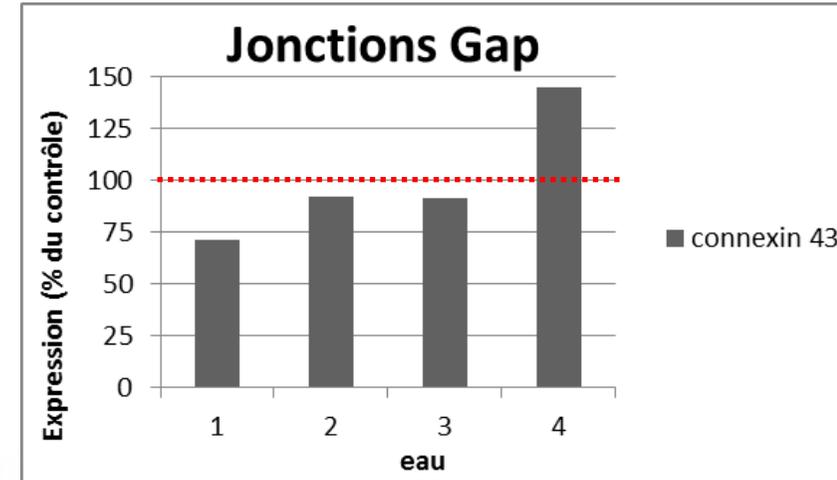
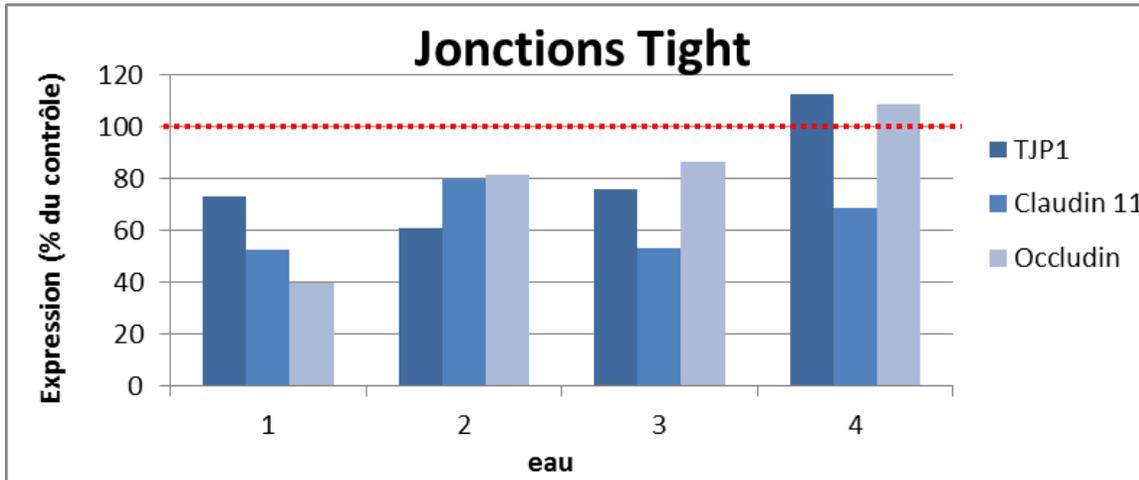
- Mesure de l'expression de différents gènes caractéristiques de la spermatogenèse par **RT-qPCR** :
 - Jonctions cellulaires,
 - Cellules somatiques,
 - Cellules germinales,
 - Récepteurs hormonaux.

Barrière hémato-testiculaire



Eau 1 : Modification de la TEER sur la durée de la culture.

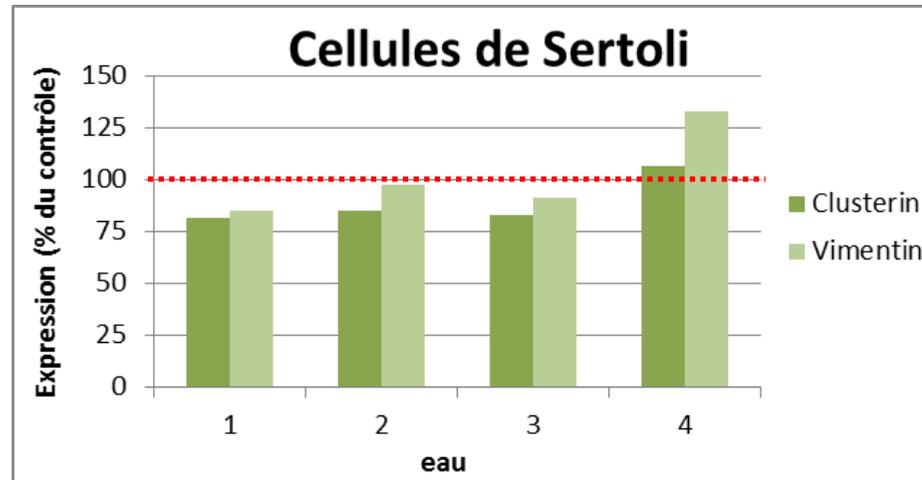
ARNm de jonctions cellulaires (% du contrôle)



Eau 1 : Diminution de l'expression des gènes de jonctions "Tight" et "Gap".

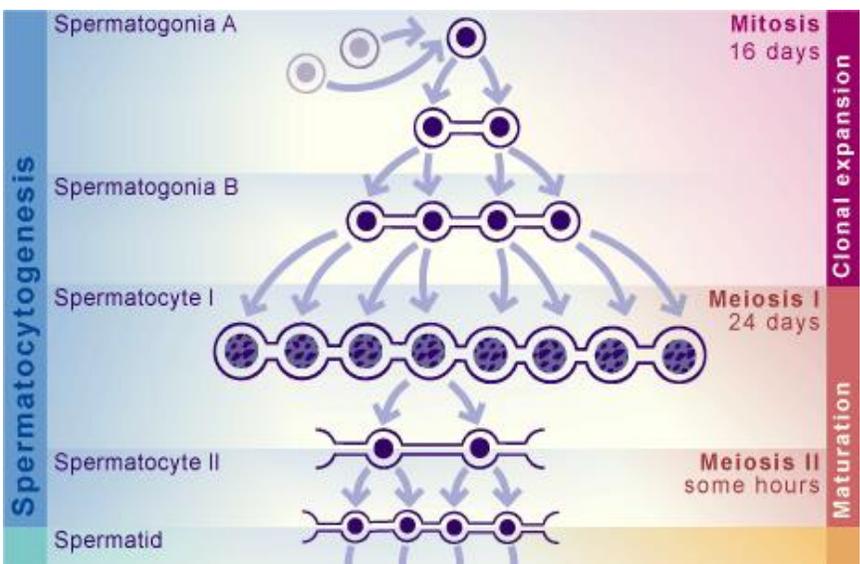
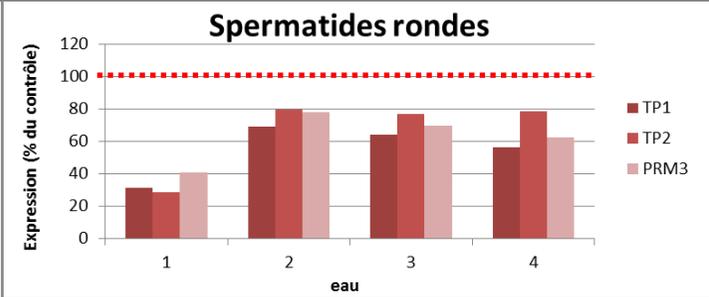
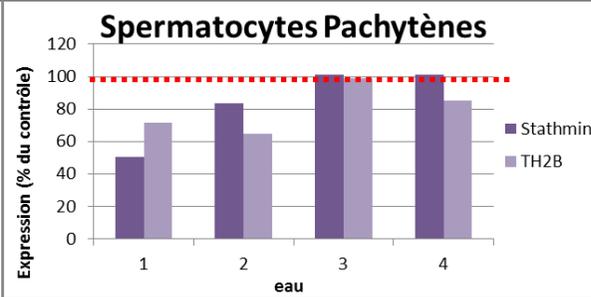
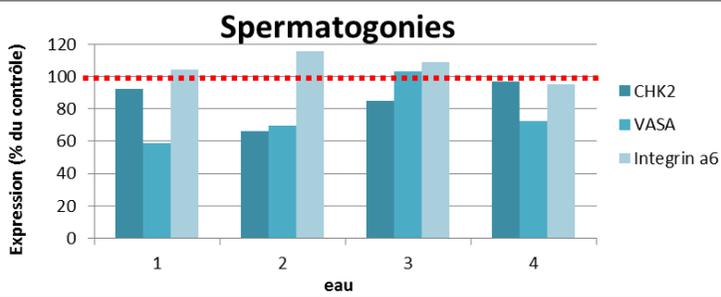
Eau 4 : Augmentation de l'expression d'un gène de jonctions "Gap".

ARNm des cellules somatiques (% du contrôle)



Aucun effet observé

ARNm des cellules germinales (% du contrôle)



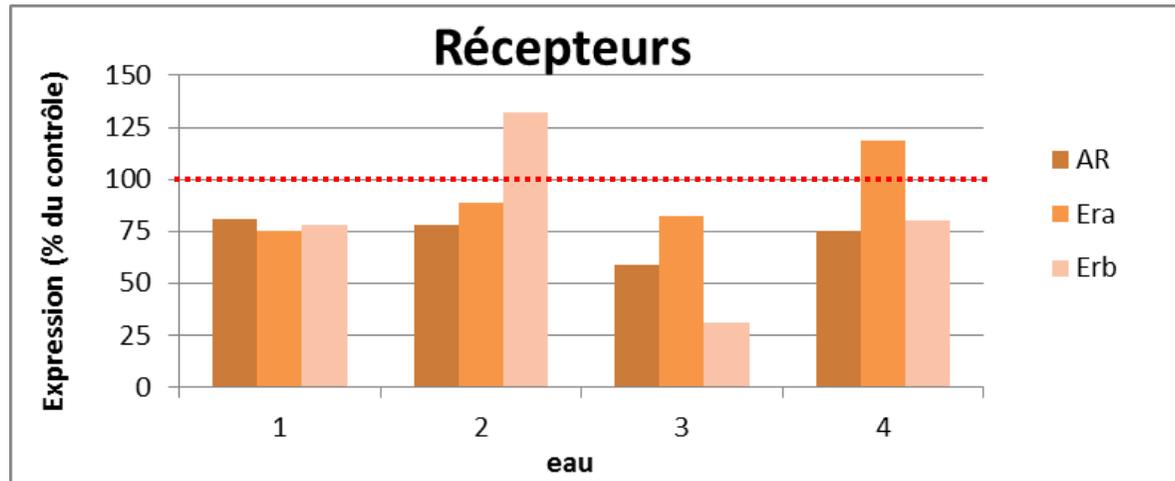
Eau 1 :

Diminution de l'expression des gènes spécifiques :

- des spermatocytes pachytènes,
- des spermatides rondes.



ARNm des récepteurs (% du contrôle)



Eaux 1 et 3 : Diminution de l'expression des gènes des récepteurs aux androgènes et aux oestrogènes.

Conclusions

Impact de la qualité de l'eau de consommation sur la spermatogenèse.

Effet de l'eau du robinet (eau 1) :

- Altération de la qualité de la barrière hémato-testiculaire,
- Diminution de l'expression des gènes des jonctions cellulaires et des spermatides rondes.

Effet perturbateur endocrinien observé (eau 1 et 3) :

- Modification de l'expression des gènes des récepteurs aux androgènes et aux oestrogènes dans plusieurs cas.

Merci pour votre attention !



Merci à :

- ✓ Antonine Blondet
- ✓ Emilie Christin
- ✓ Marie-Hélène Durand
- ✓ Philippe Durand

qui ont également participé à la réalisation de ce travail.