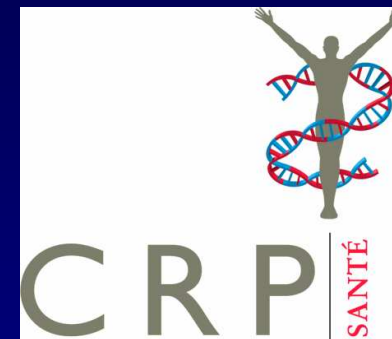


Intoxications par substances responsables de troubles du développement

Aspects historiques



Prof Robert WENNIG



Laboratoire National de Santé - Toxicologie
Centre de Recherche Public - Santé
✉ Université du Luxembourg - Campus Limpertsberg

Congrès de la Société Française de Toxicologie
Palais des Congrès, Nancy
Octobre 2009

Introduction

Depuis le début, voire avant l'ère d'industrialisation

⇒ **Observation de malformations de naissance & fausses couches**

Tragédie de la thalidomide vers 1960

⇒ **Besoin d'étudier d'une façon plus approfondie les effets des substances chimiques sur la physiologie humaine aux différents stades de développement pré-, péri- & post-natal**

Autorités sanitaires nationales, institutions & organisations scientifiques internationales

⇒ **Nombreuses études, lignes directrices ou législations en matière d'évaluation des risques en toxicologie de la reproduction**

Historique

- **Antiquité**

Figurines de marbre blanc de jumeaux dicéphaliques d'une Déesse en Anatolie (6500 av. J.-C.).

Ovide (43 av. J.-C. - 17 ap. J.-C.)

⇒ traité mythologique sur les monstres

- **Moyen-âge**

Malformations supposées être l'œuvre de Satan ou de sorcellerie

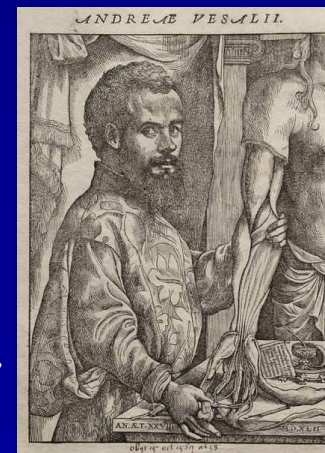
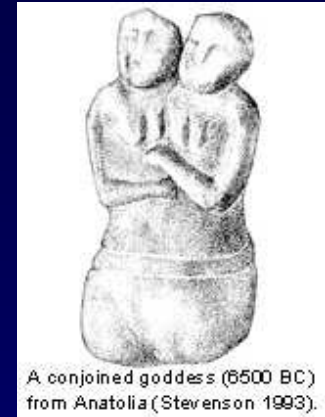
- **Renaissance**

André Vésale (1514 - 1564)

Compréhension croissante des mécanismes de reproduction & formation d'embryons

Ambroise Paré (1510 - 1590)

rédige « *Des monstres et prodiges* »



Ambroise Paré

Historique

Ere scientifique

- **Etienne Geoffroy Saint-Hilaire (1772-1844) & fils Isidore (1805-1861)**
 - ⇒ **tératologie descriptive**: Classifications des malformations
 - ⇒ monstruosités non dues à l'imagination de la mère
- **Camille Dareste (1822-1899)** fondateur de la **tératologie expérimentale**
- **Paul Ancel (Nancy 1873-1961) et Etienne Wolff (Strasbourg 1904-1996)**
 - ⇒ fondateurs de la **chimiotératogénèse (1919)** : malformations dose dépendantes
- **Fred Hale (1888-1957)** vitamine A ⇒ 1^{er} effet tératogène environnemental
 - carence ⇒ **anophtalmie**
- **Sir Norman McAlister Gregg (1892-1966)** en 1941
 - ⇒ **rôle embryotoxique** du virus de la rubéole
- **Joseph Warkany (1902-1992)**, pédiatre austro-américain « **père de la tératologie** »
- **Widukind D. Lenz (1919-1995)** UKE Hamburg met 1961 en évidence la cause de la tragédie provoquée par la **thalidomide**

Généralités

Tératologie = branche de l'**embryologie** étudiant **anomalies du développement, structurales, fonctionnelles ou métaboliques**

Etymologie du mot **tératologie**

τερατολογία = récit fabuleux, composé de τέρας = signe des dieux, par extension monstre & λογος = discours, récit, parole

Joseph Warkany ⇒ **congénital** et **héréditaire** = interchangeables

Conception actuelle

- **congénital** = caractère (i.e. élément du phénotype) d'un individu à la naissance même s'il n'est pas décelable immédiatement
- **héréditaire** = caractère transmissible à la descendance = maladies génétiques pas évidentes à la naissance, se manifestant après une période de latence clinique de plusieurs années

Cours du Prof Mark M, ULP Strasbourg

Généralités

Effets repro-toxiques

La toxicologie s'est d'abord concentrée sur les effets tératogènes et s'est élargie par la suite à d'autres domaines

⇒ **Toxicologie de la reproduction** = Repro-toxicologie

Définitions

Sont repro-toxiques toutes « substances et préparations qui, par inhalation, ingestion ou pénétration cutanée, peuvent produire ou augmenter la fréquence d'effets nocifs non héréditaires dans la progéniture ou porter atteinte aux fonctions ou capacités reproductives mâles ou femelles »

Directive européenne 67/548/CEE

Atteintes portées au développement de l'enfant au cours de la gestation et après la naissance, y compris avortements spontanés, mortinatalité, petits poids à la naissance, malformations congénitales, altérations du développement mental et physique jusqu'à et y compris le développement pubertaire normal, atteintes de la fertilité: effets sur la libido, spermatogenèse, oogenèse, fécondation y compris l'implantation

Facteurs repro-toxiques

Substances chimiques

Drogues

Ethanol / tabac

Médicaments

Produits chimiques industriels

Contaminants

Facteurs physiques

Radiations ionisantes

Facteurs biologiques

Maladies infectieuses

Maladies métaboliques

Malformations congénitales

Incidence

1 à 5 % des nouveau-nés vivants (difficile à chiffrer)

= fraction d'un ensemble, car environ 75% des fœtus anormaux
⇒ avortements spontanés

Blastogenèse ⇒ principe du «tout-ou-rien»

Effets nocifs majeurs ⇒ avortement

Effets nocifs mineurs ⇒ compensation par cellules pluripotentiell

Au début du 1^{er} trimestre de la grossesse 80 % des femmes prennent des médicaments (dont 30 % seulement sur prescription médicale) souvent sans savoir qu'elles sont enceintes

NB Pas tous les médicaments sont repro-toxiques

Causes des malformations congénitales

Causes environnementales identifiées ou non (2 à 10%)

Radiations ionisantes

Médicaments i.e. thalidomide

Virus i.e. rubéole

Causes maternelles: désordres métaboliques, traumatismes

Majorité des causes = non génotoxiques

Causes génétiques (20 à 35 %)

Défauts numériques i.e. trisomie, monosomie

Défauts de structure d'ADN

Défauts d'un seul gène responsable pour 7 à 8 % des anomalies congénitales

Causes multifactorielles (20%)

Interaction gène / environnement i.e. fentes palatines

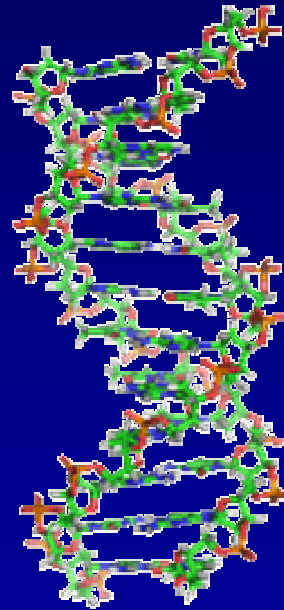
> 60% des cas \Rightarrow étiologie indéterminée

DNA Damage & Consequences

Point Mutations
Transcription Blockade
Replication Blockade
SCEs
Chromosomal Aberrations
DNA-Amplification
Recombination
Deletion

Spontaneous Effects

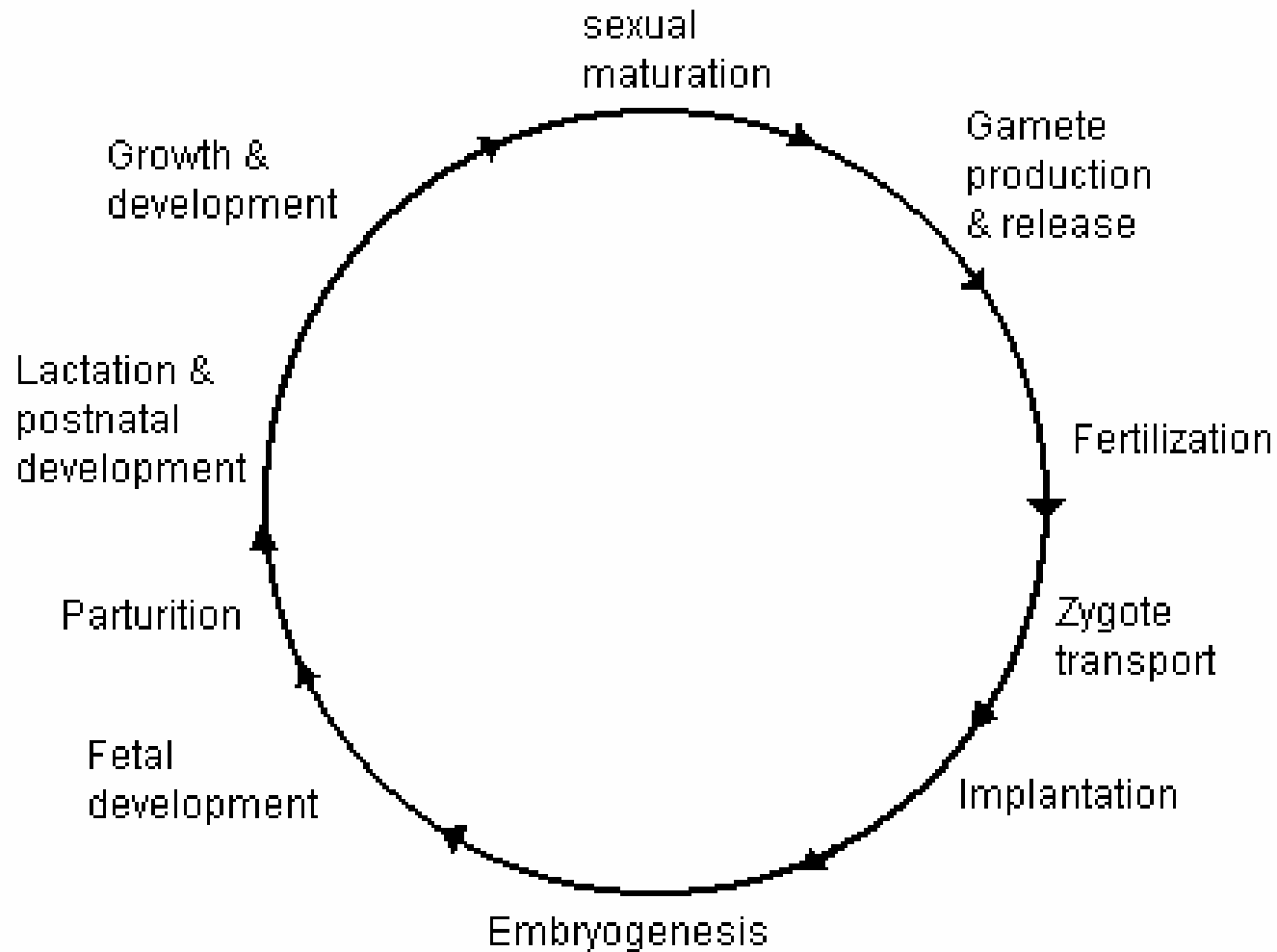
Hydrolysis
Oxidation
Methylation
Tautomerism
Deamination
Depurination
Transition
Transversion



Heritable Syndromes
Immortalisation
Tumour Suppressor Gene Inactivation
Oncogene Activation
Apoptosis
Necrosis
Teratogenesis

Cibles potentielles des agents repro-toxiques

Cycle de reproduction



Evaluation des risques

Données Exposition & Toxicité - Relations Dose / Effets

- **Beaucoup de données disponibles**
Médicaments, additifs aux aliments, cosmétiques & pesticides
- **Moins de données disponibles**
Toxiques industriels, toxiques naturels, drogues, résidus dans aliments
- **Peu de données disponibles**
Polluants de l'environnement

UE en 2006 pour combler les lacunes & obtenir niveau de protection adéquat

⇒ **REACH - Registration, Evaluation and Authorisation of Chemicals**

Avant 1981 100000 produits chimiques sur le marché

Après 1981 4000 produits chimiques nouveaux sur le marché

Perception des risques

Experts & profanes ne sont pas toujours du même avis

Procédure d'évaluation de la toxicité

- Essais de toxicité aiguë (DL₅₀)
- Etudes métaboliques & cinétiques
- Essais de toxicité sub-aiguë (28 j)
- Essais de toxicité sub-chronique (90 j)
- Essais de toxicité chronique (2 ans)
- Essais de mutagénicité (2 à 6 mois)
- Essais de carcinogénicité (2 ans)
- **Essais de tératogénicité & de toxicité de la reproduction**
- Essais d'immunotoxicité
- Essais de toxicité d'organes cibles

Classification des substances dangereuses CMR

Substances CMR

C = cancérogène

M = mutagène

R = repro-toxique

On distingue 3 catégories

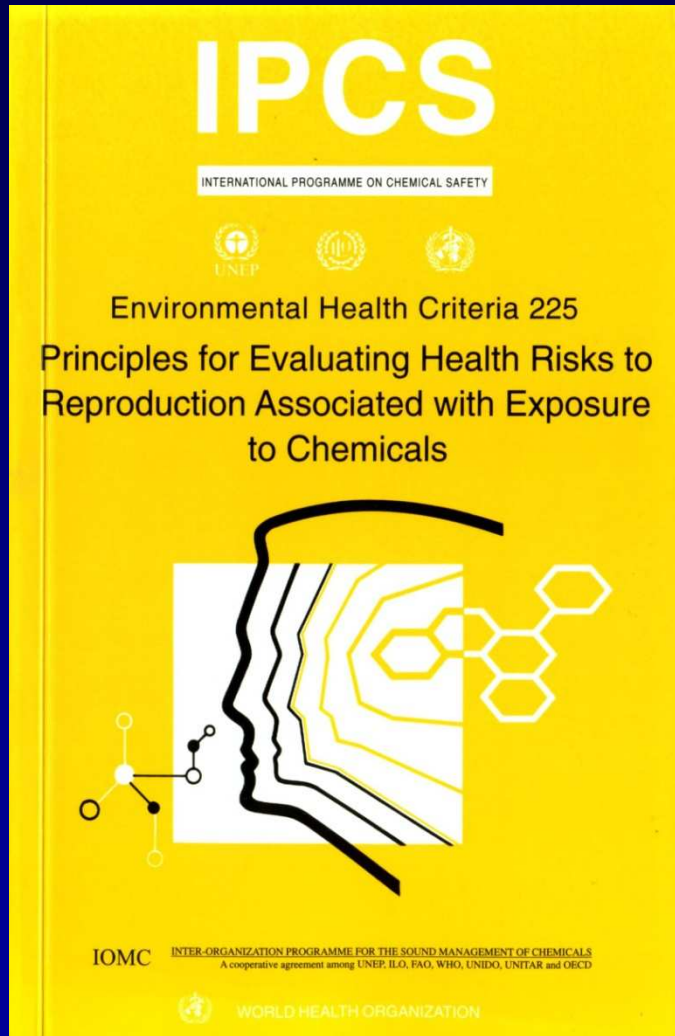
- **Cat 1 CMR prouvé pour l'homme**
- **Cat 2 CMR probable pour l'homme et prouvé pour l'animal**
- **Cat 3 CMR possible pour l'homme**

Points faibles des systèmes de classification et d'étiquetage

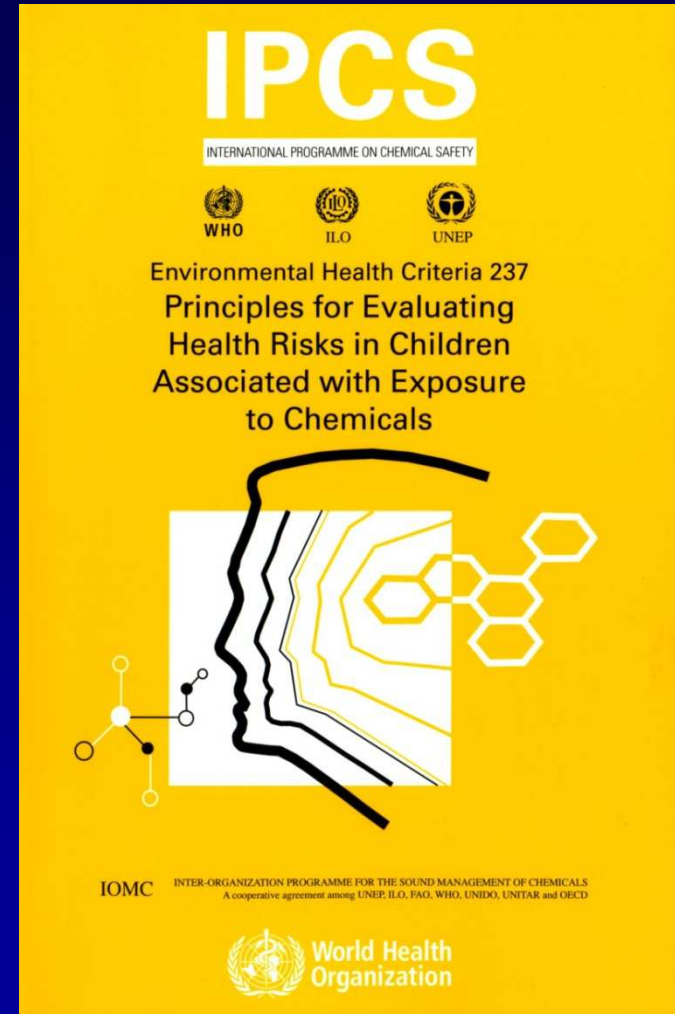
- Classification pas toujours fondée sur résultats d'études épidémiologiques, mais souvent sur ceux d'études expérimentales réalisées par fabricants des produits
 - Etudes repro-tox, sauf médicaments, ne sont obligatoires qu'à partir d'un certain tonnage mis sur le marché
 - Estimation que > 95 % des substances nouvelles sans données repro-tox ⇒ impossible à différencier des produits non testés
⇒ apparence non repro-toxiques, uniquement parce que non testées
- REACH n'améliore que modestement ces informations**

Lafona D. Gyn Obst Fert 34: 950-954 (2006)

Sources d'informations



OMS Genève, 2001



OMS Genève, 2006

Banque de données repro-tox américaine

Developmental & Reproductive Toxicology / Environmental Teratology Information

Center DART®/ETIC

Base de données bibliographiques de la National Library of Medicine's Toxicology

Data Network (TOXNET®) <http://toxnet.nlm.nih.gov>

Tératologie & autres aspects de la toxicologie du développement & de la reproduction contenant > 200 000 références publiées depuis 1965

Banque de données financée par:

U.S. Environmental Protection Agency

National Institute of Environmental Health Sciences

National Center for Toxicological Research of FDA

National Library of Medicine

Développements récents

Depuis 1965 de nombreux modèles expérimentaux de repro-toxicologie ont été développés

Etude à titre d'exemple ⇒ distinction entre tératogènes & non-tératogènes

Procédure de criblage

Méthode alternative utilisant le poisson-zèbre (*Danio rerio*) pour études de toxicité du développement permettant prédiction effets sur mammifères

Evaluation de l'embryotoxicité & caractéristiques morphologiques des embryons à 24h, 48h, 72h & 144h post-fécondation

⇒ courbes concentrations-réponse

⇒ indice tératogénique = ratio CL_{50} / CE_{50}

Selderslaghs IW, Van Rompay AR, De Coen W, Witters HE,. Reprod Toxicol. (2009)

May 15 Epub ahead of print

Médicaments repro-toxiques

Groupes de matières actives	Effets nocifs principaux
Antibiotiques	
Aminoglycosides	Atteinte des oreilles ou/et reins
Fluoroquinolones	Atteinte des cartilages
Tétracyclines	Atteinte dentaire & osseuse
Inhibiteurs de l'enzyme de conversion de l'angiotensine	Malformations multiples
Antiépileptiques	Atteinte du tube neural
Rétinoides	Malformations multiples
Hormones sexuelles	Dédifférenciation sexuelle
Dérivés coumariniques	Syndrome warfarinique
Cytostatiques & radio-isotopes à usage diagnostique ou thérapeutique	Malformations multiples

Médicaments repro-toxiques

Groupes de matières actives	Effets nocifs principaux
Anti-inflammatoires non-stéroïdiens	Occlusion du canal artérielle
Glucocorticoïdes	Retards de croissance
Substances individuelles	Effets nocifs principaux
Ergotamine	Incidence fausses couches ↗
Surdosage d'iode	Hypothyroïdie
Lithium	Malformations cardiaques
Thalidomide	Malformations multiples

Hoax Progesterex

Aspect anecdotique

Légende urbaine en 2009 sur Internet

- Jeune fille en boîte de nuit « La LOCOMOTIVE » à Paris violée par une bande de 5 hommes

Voleurs auraient administré à la fille à son insu du PROGESTEREX, allégué être médicament vétérinaire & du ROHYPNOL dans une boisson, dans le but d'éviter qu'elle ne tombe enceinte

- **Rumeur** ⇒ rendrait la victime définitivement stérile et amnésique

Faux: PROGESTEREX = substance inventée

Vrai: ROHYPNOL ⇒ amnésie antérograde

Hoax français = adaptation d'un hoax américain circulant depuis 1999

Tragédie de la Thalidomide

CONTERGAN, KEVADON, SOFTENON



- **Thalidomide** mise sur le marché en 1956
comme sédatif par Chemie-Grünenthal de Stolberg près d'Aachen
- En 1958 ⇒ envahissement du marché mondial
- **Indications**
Insomnie ⇒ anti-émétique “sans risque” pour nausées matinales des femmes enceintes
- Estimation 100.000 bébés de 46 pays décédés *in utero* & 10 000 nés avec des handicaps sérieux, dont 50% ont vécu au delà d'un an
- Environ 3500 victimes toujours en vie à l'heure actuelle

Tragédie de la Thalidomide

W. D. Lenz à Hamburg & **W.G. McBride** en Australie en 1961

⇒ effets tératogènes de la **rac-thalidomide**

Syndrome de Lenz-Wiedemann, phocomélie ou embryopathie à la thalidomide

Incidences malformations congénitales 20% vs incidence normale 1,5 %

⇒ retrait de l'AMM en 1961 en Allemagne

1 caps de 50 mg ⇒ malformations sérieuses à la naissance dues à un retard de croissance des membres du fœtus, ressemblant à des nageoires de phoque

- Cas les plus sévères ⇒ absence complète de membres (amélie)
- Malformations cranio-faciales, malformations gastro-intestinales, cardiaques, rénales & génito-urinaires
- Risque tératogène = max pendant période critique j 35 à j 50 post-aménorrhée

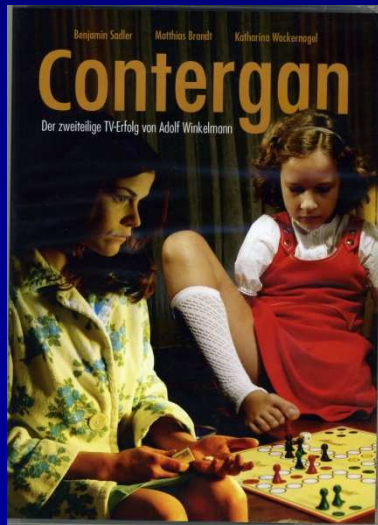
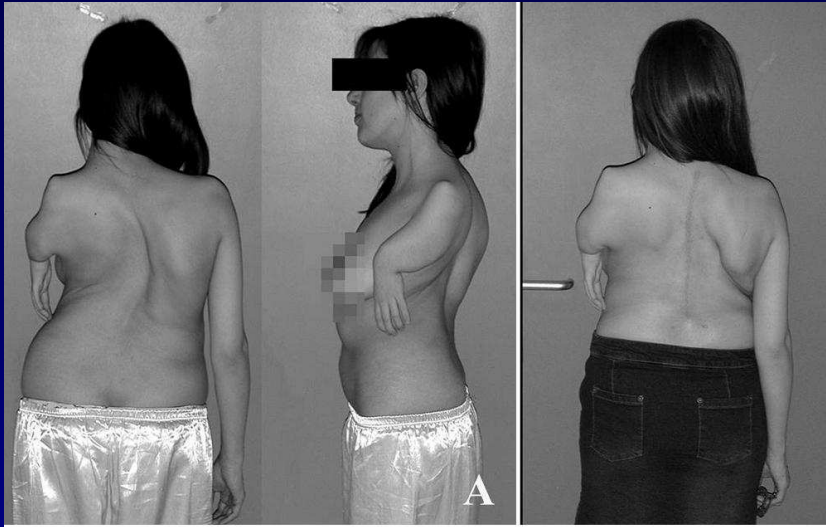
Env. 40% fœtus exposés ⇒ décès périnataux par atrésie de l'intestin

Lenz WD. Lancet 1:45 (1962)

McBride WG. Lancet 2:1358 (1962)

Tragédie de la Thalidomide

Exemples de cas de Phocomélie



Téléfilm en 2006 par
Adolf Winkelmann

Victimes célèbres



Chanteur baryton
Thomas Quasthoff



Comédien
Gary Skyner

Thalidomide

Le scandale de la thalidomide avait **secoué le monde médical**

⇒ **réformes majeures** des essais de sécurité des médicaments & des AMM

- **Thalidomide n'a jamais été approuvé ni en France & Luxembourg, ni aux USA car la FDA redoutait le développement de neuropathies périphériques**
- **Quelques victimes dans certains pays ont été dédommagés**

Italie, Autriche & Espagne: pas de dédommagements

Grande Bretagne: moyenne de 20.000 € par an

Allemagne & Irlande: maximum de 4.500 €

Tératogénicité de la Thalidomide

- **Expérimentation animale de toxicité chronique & essais cliniques en 1956**
 - ⇒ pas de toxicité particulière, car essais de tératogénicité non effectués à l'époque
 - ⇒ médicaments *a priori* anodins = tératogènes potentiels
- **Le(s) mécanisme(s) de tératogénicité = controversé & toujours pas totalement élucidé**
- **Effet tératogène serait expliqué par effet immunomodulateur & effet anti-angiogénique**

Thalidomide

Développements par la suite

En 1965, Sheskin, découvre lors d'une prescription comme sédatif, l'efficacité spectaculaire de la thalidomide dans l'érythème noueux lépreux
⇒ utilisation dans nombreuses pathologies inflammatoires cutanées et/ou viscérales

Sheskin J. Clin Pharmacol Ther 6: 303–306. (1965)

Sheskin J. Intern J Dermatol 14: 575-576(1975)

Thalidomide - 50 ans après

Traitement en cancérologie

Propriétés anti-angiogéniques \Rightarrow traitement de certaines formes de cancer

i.e **myélome multiple chronique**

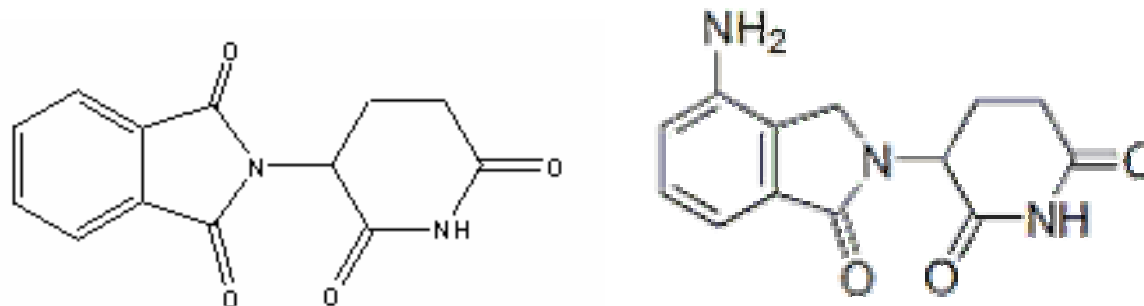
Dérivés de rac-thalidomide avec énantiomère S(-) stabilisé

\Rightarrow activité anti-TNF- α plus puissante

Le lénalidomide REVLIMID \Rightarrow médicament orphelin par l'EMA

pour traitement du myélome multiple résistant à la chimiothérapie en association avec la dexaméthasone

Celgene à la demande CHMP & AFSSAPS \Rightarrow informe médecins des modalités de surveillance \Rightarrow à éviter par femmes enceintes ou dans l'âge de procréer

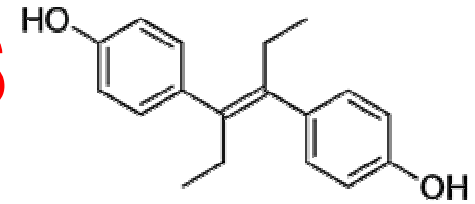


Thalidomide

Utilisations Off-label

- **maladie de Behçet**
- **pyodermite phagédénique**
- **lupus érythémateux chronique**
- **lichen plan**
- **prurigo nodulaire de Hyde**
- **sarcoïdose**
- **réaction du greffon contre l'hôte**
- **virus de l'immunodéficience humaine**
- **infiltration lymphocytaire de Jessner**
- **histiocytose langerhansienne**
- **pemphigoïde**
- **tumeurs solides**

Diethylstilboestrol DES



- Œstrogène synthétisé au Royaume-Uni en 1938 commercialisé comme médicament STILBESTROL- BORNE
- Autres pays (dont la France) sous le nom de DISTILBENE

Dodds EG ,Golberg L, Lawson W, Robinson R. Nature 141:247-249 (1938)
- Depuis les 1940s prescrit aux femmes enceintes pour
prévenir fausses couches
traiter hémorragies gravidiques & stérilités
- Dieckmann en 1953 à Chicago ⇒ étude randomisée en double aveugle sur groupe de 840 femmes traitées (groupe de 800 femmes témoins)
⇒ DES inefficace dans prévention fausses couches du 1^{ier} trimestre
Conclusions passent inaperçues & médicament continua à être promu, commercialisé par 300 firmes & prescrit à grande échelle.

En 1959 interdiction aux US de traiter les aliments pour poulets au DES

Dieckmann WJ, Davis HE, Rynknewicz LM, Pottinger RE. Am J Obstet Gynecol 66:1062–1081 (1953).

Diéthylstilboestrol DES

Vers 1970 gynécologue américain Herbst au Vincent Memorial Hospital de Boston, suite à l'observation chez 7 jeunes filles de 15 à 22 ans

⇒ relation entre la prise de DES et l'adénocarcinome à cellules claires du vagin survenant chez des filles de mères traitées par DES durant la grossesse

Herbst AL, Scully RE. Cancer 25:745-757 (1970)

Herbst AL, Ulfelder H, Poskanzer DC. N Engl J Med 284:878-881(1971)

Herbst AL, Kurman RJ, Scully RE. Obstet Gynecol 40:287-298 (1972)

Diethylstilboestrol DES

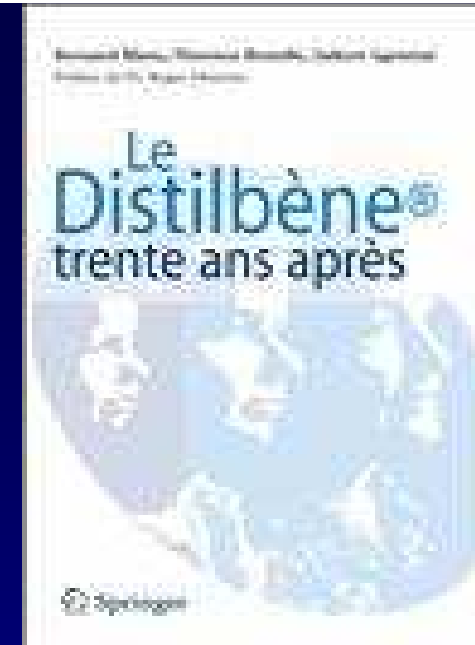
- Interdiction 1971 aux USA de la prescription aux femmes enceintes
- Interdiction 1977 France, Allemagne, Autriche, Pays-Bas & 1994 pays tiers monde
- « le mal étant fait » ⇒ une génération d'enfants exposés au DES *in utero* nés entre 1940 et 1980 ⇒ un certain nombre d'anomalies génitales ⇒ "enfants DISTILBENE"
- **Filles**, dès la puberté
 - ⇒ malformations génitales +/- typiques, risques augmentés de cancers du vagin du col et du sein, nombreux cas de stérilité
- **Garçons**, effets moins visibles
 - ⇒ sténose de l'urètre, kystes de l'épididyme, hypospadias, cryptorchidie hypotrophie testiculaire, oligospermie
- **Enfants DES & effets indésirables à la 3^{ième} génération**
 - ⇒ représentent un authentique problème de santé publique à surveiller de près
 - ⇒ âge de procréer 1975 à 2015

Senekjian EK, Potkul RK, Frey K, Herbst AL. Am J Obstet Gynecol 158:493-498 (1988)

Diéthylstilboestrol DES

- Femmes exposées

USA	> 5 Mio
France	200 000
Pays-Bas	150 000
Grande Bretagne	7 000



Veurink M, Koster M, Berg LT. Pharm World Sci 27:139-143 (2005)

- TGI de Nanterre a condamné UCB Pharma en 2002 (confirmé en 2004 par Cour d'Appel de Versailles) responsable de « défaut de sécurité » de son produit litigieux & manque à son obligation de vigilance
 - ⇒ Compensations & frais de procédure pour plaignantes ou survivants
- DISTILBENE plus jamais été prescrit chez la femme enceinte depuis 1983
Actuellement prescrit aux patients avec métastases de cancer de la prostate, où il a fait preuve de son efficacité
- Eli Lilly a arrêté la production du DES en 1997

Diethylstilboestrol DES

DES proposé en 1971 comme “pilule du lendemain”

Kuchera LK. J Am Med Assoc 218: 562–563 (1971)

Tentative de limiter l’usage comme contraceptif post coïtal à des situations de détresse (viols & incestes), la FDA a envoyé en 1973 un bulletin aux médecins & pharmaciens US déclarant que DES = approuvé par la FDA sous certaines restrictions

En 1975 la FDA avoue erreur dans ce bulletin de 1973

- ⇒ pas d’approbation
- ⇒ retrait du marché des comprimés de 25 mg
- ⇒ ordonnance d’étiqueter les doses de 5 mg:

"THIS DRUG PRODUCT SHOULD NOT BE USED AS A POSTCOITAL CONTRACEPTIVE"

Vitamine A & rétinoïdes

- **Identification & caractérisation des récepteurs nucléaires hétérodimériques acide rétinoïque (RAR) & rétinoïques X (RXR)**
 - ⇒ **Explication de l'action pléiotrope des rétinoïdes**
 - **niveau de la croissance & de multiples fonctions: vision & maintenance des tissus au cours de l'embryogenèse & du développement**
 - **indispensable à morphogenèse précoce & survie de l'embryon de souris**
- **Absence synthèse d'acide rétinoïque ou régime alimentaire maternel pauvre en vitamine A ⇒ malformations & avortement précoce de l'embryon humain**
- **Excès d'acide rétinoïque ⇒ membres supplémentaires chez souris mutante**

Niederreither K, Ward SJ, Dollé P, Chambon P. Dev Biol 176:185-198 (1996)

Niederreither K, Subbarayan V, Dollé P, Chambon P. Nat Genet 21:444-448 (1999)



Anti-épileptiques

- 6 cas d' enfants exposés *in utero* à des antiépileptiques
⇒ fentes oro-faciales, dysmorphies faciales & anomalies cardiaques

Meadow SR. Lancet 7581(2): 1296 (1968)

- Entre 1970 et 1980 phénobarbital, phénytoïne & carbamazépine
⇒ causes majeures de malformations i.e. *spina bifida*, microencéphalie
retard à la croissance & anomalies faciales & digitales mineures

Dalessio DJ. N Engl J Med 312:559-563 (1985)

- Risque normal de *spina bifida*: 1 grossesse sur 2000
- Traitement par valproate de sodium DEPAKINE ⇒ risque multiplié par 10
- De façon générale l'épilepsie ⇒ risque de *spina bifida* ↗

Syndrome d'embryofœtopathie à la triméthadione

Triméthadione =anti-épileptique (classe des oxazolidines) retiré du marché en France à cause des effets indésirables chez les enfants exposés *in utero*

Ce syndrome (comme déjà décrit pour les autres antiépileptiques) inclut

Retard de croissance pré et post-natal, retard de développement & d'acquisition du langage, anomalies cranio-faciales (oreilles malformées & implantées bas, fente labiale et/ou palatine, microcéphalie, épicanthus, anomalie des dents, ensellure nasale marquée)

Plus rarement: anomalies cardiaques, uro-génitales & des extrémités

Zackai EH, Mellman WJ, Neiderer B, Hanson JW. J Pediatr 87: 280-284 (1975)

Codéine / Morphine

- **Biotransformation Codéine ⇒ Morphine responsable de l'effet analgésique**
CYP 2D6 = enzyme présentant polymorphisme génétique ⇒ 2 phénotypes
 - Métaboliseurs extensifs (EM) ⇒ 3,70 % transformation en morphine**
 - Métaboliseurs limités (PM) ⇒ 0,17 % transformation en morphine**
car CYP2D6 fonctionnel non exprimé
- **Prévalence PM population caucasienne 7 à 10 % ⇒ pas d'effet analgésique**
mais patients = exposés aux effets secondaires comparables des EM
- **Mères EM allaitantes traitées par codéine pour des douleurs postpartum**
⇒ dépression du SNC voire fatalité chez nouveau-nés

Eckhardt K, Li S, Ammon S, Schänzle G, Mikus G, Eichelbaum M. Pain 76:27-33 (1998)

Madadi P, Ross CJ, Hayden MR, Carleton BC, Gaedigk A, Leeder JS, Koren G. Clin Pharmacol Ther 85:31-35 (2009)

Benzodiazépines

Pharmacocinétique importante pendant grossesse, parturition & allaitement

Toutes les benzodiazépines se retrouvent dans le lait maternel

Seulement à doses élevées ⇒ risque d'un effet indésirable sur nouveau-nés

⇒ *floppy infant syndrome* & éventuellement syndrome de sevrage néonatal

Kanto JH. Drugs 23:354-380 (1982) / McElhatton PR. Reprod Toxicol 8:461-475 (1994)

Lemmer P, Schneider S, Mühe A, Wennig R. J Anal Toxicol 31:224-226 (2007)

Anomalies congénitales - Etude cas-témoins hongroise (1980-1996)

38 151 population-témoin de nouveau-nés sans anomalies

22 865 nouveau-nés ou fœtus avec anomalies & 812 avec syndrome de Down

⇒ traitement de 3 sem. au diazépam (10-12% des participants) par doses thérapeutiques usuelles pendant la grossesse

⇒ pas de risque tératogène détectable

Czeizel AE, Erös E, Rockenbauer M, Sørensen HT, Olsen J. Clin Drug Investig 23:451-462 (2003)

Etude de cancer du sein

Aucune association benzodiazépines avec risque de cancer du sein

Halapy E, Kreiger N, Cotterchio M, Sloan M. Ann Epidemiol 16: 632-636 (2006)

Benzodiazépines & Antidépresseurs

Comparaison du comportement des nouveau-nés exposés *in utero*

Exposition à monothérapie ISRSs ou bithérapie ISRSs & clonazépam

- ⇒ Traitement combiné modification métabolisme des ISRSs
- ⇒ Taux sanguins ISRSs ↗
- ⇒ Risque ↗ syndrome néonatal de sevrage passager (30% vs 9 %)

Oberlander TF, Misri S, Fitzgerald CE, Kostaras X, Rurak D, Riggs W.

J Clin Psychiatry 65:230-237 (2004)

Revue de la littérature

Données disponibles ⇒ exposition *in utero* à ISRSs & ISRNs pendant dernier trimestre jusqu'à l'accouchement ⇒ syndrome néonatal de sevrage passager qui peut être pris en charge par traitement symptomatique

Moses-Kolko EL, Bogen D, Perel J, Bregar A, Uhl K, Levin B, Wisner KL.

J Am Med Assoc 293:2372-2383 (2005)

Bléomycine, Etoposide & cis-Platine (BEP)

Traitement du cancer testiculaire

BEP ⇒ taux de guérison > 90%

Etude de l'impact de BEP sur l'expression des gènes dans cellules souches mâles de rats Brown-Norway traités pendant 9 sem. à doses équivalentes de 0,3 x & 0,6 x dose humaine

Fin du traitement ⇒ spermatogenèse affectée

- histologie altérée, oligospermie

- spermatozoïdes avec nombre ↗ de fractures d'ADN

⇒ expression ↗ dose-dépendante de gènes de réponse au stress oxydatif

⇒ pas de changement d'expression de gènes des voies de réparation d'ADN

⇒ surexpression des gènes des voies des proto-oncogènes *Jun & Jun b*

Delbès G, Chan D, Pakarinen P, Trasler JM, Hales BF, Robaire B.

Biol Reprod 80:320-327(2009)

Ethanol EtOH



EtOH connu par l'humanité depuis 4200 av.-J-C

Représentation du procédé de fermentation de la bière
sur scènes de poteries en Mésopotamie

EtOH suspecté depuis longtemps d'avoir un potentiel tératogène

Ce n'est que récemment qu'on a trouvé des preuves

William Shakespeare (1564-1616) = Toxicologue pionnier?

Macduff, assassin de Macbeth

What three things does drink especially provoke?

Porter

Marry, Sir, nose painting, sleep and urine

***Lechery, Sir, it provokes the desire and takes away the
performance***

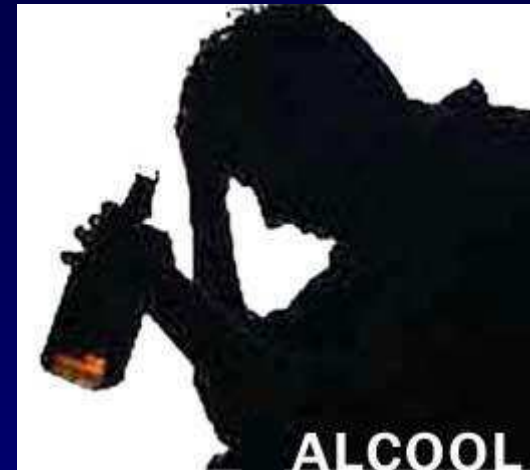
Acte II scène 3 de Macbeth



Ethanol EtOH

Effets sur fonction reproductrice mâle

- Intoxication aiguë
 - testostérone plasmatique ↘
 - hormone lutéinisante ↗
- Intoxication chronique ⇒ Effet double
 - action locale: gonades
 - action centrale: axe hypothalamus-hypophyse
 - ⇒ effet nocif sur spermatogenèse



Effets sur fonction reproductrice féminine (moins bien connus)

Observation chez les rates traitées par EtOH

- ⇒ Inhibition de l'ovulation
- ⇒ Oestradiol & progestérone plasmatiques ↘

*Hadi HA, Hill JA, Castillo RA.
Obstet Gynecol Surv. 42:69-74 (1987)*



Ethanol

Déficiences mentales, physiques & développementales associées avec consommation d'EtOH durant la grossesse

⇒ Syndrome d'alcoolisme foetal (SAF) & effets de l'alcool sur le foetus (EAF)

Affections du SAF plus sévères que celles dues aux EAF

- Consommation d'EtOH, indépendamment du statut nutritionnel & tabagique maternel ⇒ naissance de bébés avec anomalies sérieuses: 50-70% chance
- SAF = cause majeure connue d'anomalies évitables du développement

Taux de SAF & EAF = très variables (polymorphismes ADH)

- **Etudes CDC, Atlanta**

Taux SAF varient de 0,2 à 1,5 par 1000 viables à la naissance

EAF = environ 3 fois plus souvent que SAF

Hadi HA, Hill JA, Castillo RA. Obstet Gynecol Surv 42:69-74 (1987)

- **Estimation taux SAF = 1% des naissances en France**



Exposition *in utero* aux drogues

Drug abuse's smallest Victims

Etude US-NIDA

- **Abus maternel de drogues pendant la grossesse ⇒ 5,5% des mères**
- **Exposition *in utero* ⇒ impact sévère sur développement du fœtus & enfant**
- **Problèmes de santé bébés exposés > 75% vs non-exposés 27%**
- **Coût pour traiter bébés exposés = 2 X coût des bébés non-affectés**
- **Complications obstétricales ↗ chez mères qui abusent incl. insuffisance placentaire, avortements & incidence ↗ maladies infectieuses & sexuellement transmissibles**
- **identification d'une exposition *in utero* par suivi biologique : meconium & cheveux du nouveau-né ou cheveux de la mère en début de grossesse**

Huestis MA, Choo RE. Forensic Sci Int. 128: 20-30 (2002)

Cocaïne pendant la grossesse

Début 1990s ⇒ effets repro-tox sous-rapportés

Sackoff J, Kline J, Kinney A, Grunebaum A. Am J Public Health 82:1043 (1992)

Effets indésirables potentiels pour le fœtus

naissance avant terme (< 37 sem.), anomalies congénitales

retard à la croissance intra-utérine, abruption placentaire

bébés en sous-poids (< 2500 g), mortalité néonatale

mort subite du nouveau-né (SIDS), déficits cognitifs significatifs

Effets indésirables potentiels pour la mère

syndrome pré-éclampsique, œdème aigu du poumon,

convulsions, arythmies cardiaques & mort subite

Patiente prise en charge précocement ⇒ améliore le pronostic

Dépistage dans urines, méconium ou cheveux du nouveau-né ou mère

Fox CH. J Am Board Fam Pract. 7:225-228(1994)

Singer LT, Minnes S, Short E, Arendt R, Farkas K, Lewis B, Klein N, Russ S, Min MO, Kirchner HL.

J Am Med Assoc 291:2448-2456 (2004)

Cannabis pendant la grossesse

Cannabinoïdes souvent considérés comme relativement inoffensifs

- ⇒ peu de données pour confirmer une association
- ⇒ preuves croissantes ⇒ exposition *in utero* peut induire altérations neurofonctionnelles nuancées dans la progéniture

Difficultés de tirer des conclusions sur les effets du cannabis *in utero*

- ⇒ manque de travaux de recherche
- ⇒ difficile de distinguer les effets du cannabis des effets du tabac

Reece AS. Clin Toxicol (Phila) 47: 517-524 (2009)

Campolongo P, Trezza V, Palmery M, Trabace L, Cuomo V. Int Rev Neurobiol 85:117-133 (2009)

Huizink AC. Toxicol 28:143-151(2009)

Habitude de fumer pendant la grossesse

Exposition prénatale au tabac ⇒ risque ↗ déficits cognitifs, déficits auditifs & habitude de fumer de la descendance ↗

Jacobsen LK, Slotkin TA, Mencia WE, Frost SJ, Pugh KR. Neuropsychopharmacology 32:2453-2464 (2007)

Etude épidémiologique- Harvard School of Public Health, Boston

34949 paires maman-fille participant dans **Nurses' Health Study II**

⇒ exposition *in utero* associé à un sous- poids & risque d'asthme ↗

Simard JF, Rosner BA, Michels KB. Epidemiology 19:628-633 (2008)

US-National Cooperative Diethylstilbestrol Adenosis Project - début 1975

Examen des effets d'exposition prénatale au DES de 1994 à 2001 chez 4025 participantes

⇒ tabagisme maternel peut jouer un rôle dans programmation de l'âge de la ménopause & peut affecter l'habitude active de fumer de la descendance

Strohsnitter WC, Hatch EE, Hyer M, Troisi R, Kaufman RH, Robboy SJ, Palmer JR, Titus-Ernstoff L, Anderson D, Hoover RN, Noller KL. Am J Epidemiol 167:727-733 (2008)

Ethers de glycol



Ethers de glycol = solvants importants largement utilisés

Etudes récentes ⇒ classés CMR2 ou CMR3

Transformation en acides monoalkoxy = condition préalable de la toxicité

- Monométhyl éther d'éthylène glycol (EGME)
- Diméthyl éther d'éthylène glycol (EGdiME)
- Monoéthyl éther d'éthylène glycol (EGEE)
- Acétate de monoéthyl éther d'éthylène glycol (EGEEA)
⇒ Atrophie testiculaire et infertilité chez les mâles
- Monométhyl éther d'éthylène glycol (EGME)
- Acétate de monométhyl éther d'éthylène glycol (EGMEA),
- Acétate de monoéthyl éther d'éthylène glycol (EGEEA)
- Diméthyl éther de diéthylène glycol (diEGdiME)
- Monoéthyl éther diéthylène glycol (diEGEE) etc.

Hardin BD. Toxicology 27:91-102 (1983)

Ethers de glycol

Etude du EGdiME

Administration par gavage à des rates Sprague-Dawley enceintes

⇒ mort maternelle	1000 mg/kg/j
foetoléthalité	120 à 1000 mg/kg/j
foetotoxicité	> 60 mg/kg/j

Mortalité périnatale ⇒ diminution en moyenne de 2 fœtus vivants par portée

Leonhardt DE, Coleman LW, Bradshaw WS. Reprod Toxicol 5:157-162 (1991)

Etude d'acétates de EGME et EGEE

- EGME via 2-méthoxyacétate MAA = puissant repro-toxique ⇒ lésions spécifiques soit sur *conceptio*, soit sur testicules en expérimentation animale
- Développement de modèles pharmacocinétiques physiologiques
⇒ extrapolations de conc. limites sur lieux du travail pour 8 h < à ceux mesurés chez travailleurs exposés

Welsch F. Toxicol Lett 156:13-28 (2005)

Substances organo-chlorées volatiles

Dibromoéthane (DBE)

Ajouté aux essences plombées ad 2000 comme évacuateur (scavenger) du Pb & agent fumigateur du sol

⇒ Effets repro-tox chez travailleurs mâles i.e. qualité sperme ☹

1,2-Dibromo-3-chloropopane (DBCP)

Utilisé comme nématocide & agent fumigateur du sol

⇒ Stérilité observée chez travailleurs mâles de DOW Chemical

Usine vendue en 1987 à Dole Food Company

⇒ nombreux procès en justice par la suite

Dichloropropanes

Utilisés comme dégraissant & insecticide

Expérimentation animale ⇒ fertilité male ☹

Tétrachloroéthène (PER)

Utilisé comme solvant de nettoyage à sec

⇒ Risque ↗ fausses couches & qualité sperme ☹

Composés perfluorés

Première mise en évidence d'un risque d'infécondité chez 1240 danoises exposées à des composés perfluorés, ubiquitaires dans matériaux d'emballage, revêtements des ustensiles de cuisine, pesticides, habillement, capitonnage, tapis & produits de soins

Prélèvement de sang à la première visite médicale anténatale (entre 4 & 14 semaines de grossesse)

⇒ Dosage perfluoropersulfonate PFOS & perfluorooctanoate PFOA

Taux plasmatiques PFOS 6,4 ng/mL à 106,7 ng/mL

Taux plasmatiques PFOA <1 ng/mL à 41,5 ng/mL

⇒ Taux observés dans toute la population des pays développés

AESA, OCDE & AFSSA ⇒ risque revêtements antiadhésifs = négligeable

Exposition aux PFOA selon AESA = 6ng/kg pc/j << DJT de 1,5 µg/kg pc/j

Fei C, McLaughlin JK, Lipworth L, Olsen J. Hum Reprod 24:1200-1205 (2009)

Plomb

Saturnisme

Nombreuses études épidémiologiques

Conséquences de l'intoxication au Pb

⇒ manifestations très atypiques chez enfants (troubles cognitifs, insomnie, retard staturo-pondéral), vivant dans conditions difficiles, dans habitat vétuste & issus de milieux défavorisés

Saturnisme infantile = d'actualité en France vers 1985, suite à la découverte d'intoxications graves chez enfants du 11^e Arr de Paris

- Enquête environnementale ⇒ mis en cause vieilles peintures
- Enfants (6 mois à 6 ans) avec **comportement de Pica**, consistant à ingérer substances non comestibles
- Ecaille d'une peinture d'avant 1948 riche en Pb peut contenir jusqu'à 100 X l'apport quotidien toléré chez l'enfant



Perturbateurs endocriniens

Produits chimiques émotionnels

Depuis la publication *Our stolen Future* par Colborn

⇒ **controverses** considérables & “**chimiphobie**”

Colborn T et al. New York: Penguin Group, 1996

Inquiétudes au sujet des perturbateurs endocriniens

Perturbations endocriniennes observées chez animaux de laboratoire ou *in vitro*

⇒ Incidence ↗ maladies endocriniennes humaines ?

Dirty Dozen = polluants organochlorés persistants (POPs) avec $t_{1/2} > 10$ ans

Aldrine, Chlordane, Dieldrine, PCDDs, DDT, Endrine, PCDFs,

Heptachlore, Hexachlorobenzène, Mirex, PCBs & Toxaphène

Perturbateurs endocriniens

Etat naturel

Constituants de plantes

Phytostérols, isoflavonoïdes (soya), lignanes (noix), coumestans (légumineuses)
curcuminoïdes (épices)

Mycotoxines

Zéaralénone

Utilisations

Médicaments

Contraceptifs

Pesticides

DDT, lindane, dieldrine, atrazine, organo-stanniques, propoxur, glyphosate

Additifs dans matières plastiques & produits de consommation

Bisphénol A, phtalates, parabènes, retardateurs de flammes, PBBs & PBDEs, ...

Sous-produits industriels & déchets

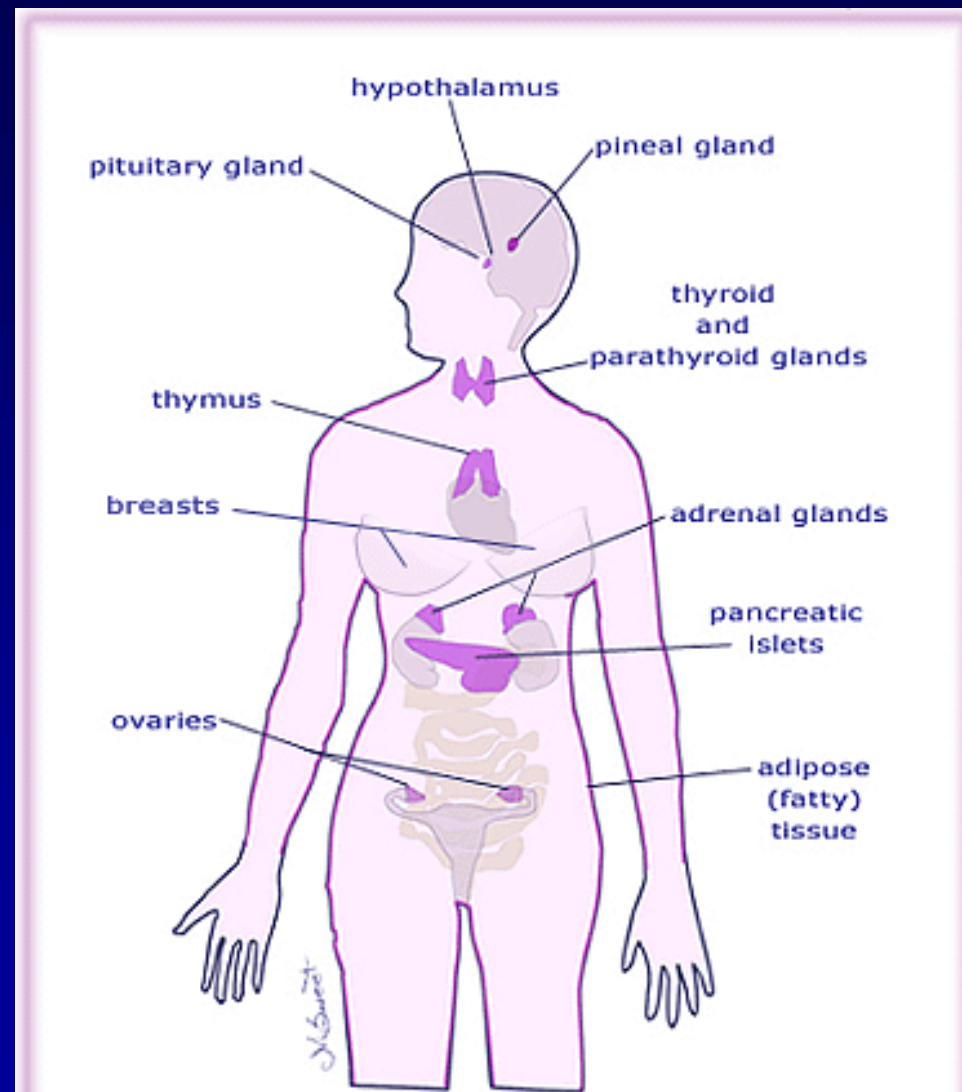
Nonylphénol (détergents), styrène ...

Polluants

PCBs, TCDD, PCDFs, HAPs, ...

Effets nocifs suspectés des perturbateurs endocriniens chez l'homme

- Effets repro-tox
- Malformations de naissance
- Cancers
- Oligospermie
- Dysfonctionnement sexuel
- Maladies cardiaques
- Désordres cognitifs
- Changement de sexe
- Puberté précoce
- Altération fonction immunitaire



Perturbateurs endocriniens

Evaluation des risques

Données expérimentales

Efficacité hormones endogènes & phyto-œstrogènes

> efficacité produits chimiques exogènes

Centre of Environmental Policy Statement at Imperial College, London

⇒ Perturbation endocrinienne reste un des sujets environnementaux les plus controversés

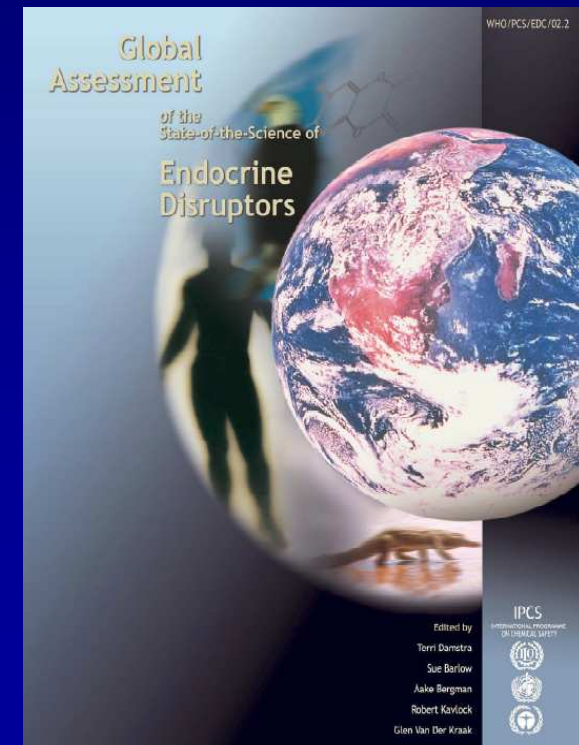
Damstra T, Barlow SM et al, IPCS-WHO, Geneva, 2002

Martin OV, Lester JN, Voulvoulis N, Boobis AR.

Toxicol Sci 98:332-347 (2007)

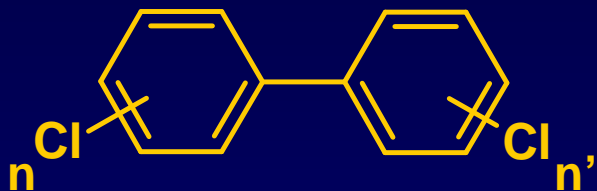
Depuis mai 2009 expertise collective en cours

INSERM, AFSSA, AFSSAPS, INRA & INVS



PCBs, PCDDs, PCDFs & TCDD

Produits chimiques émotionnels



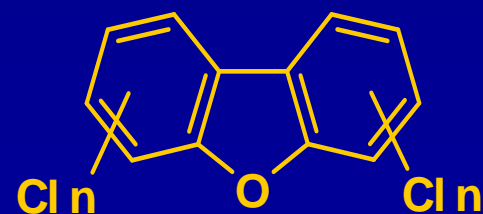
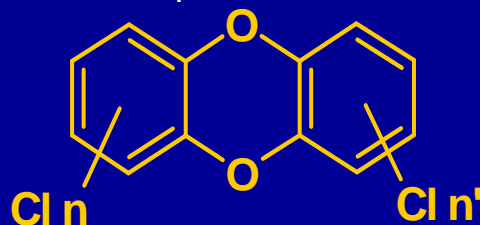
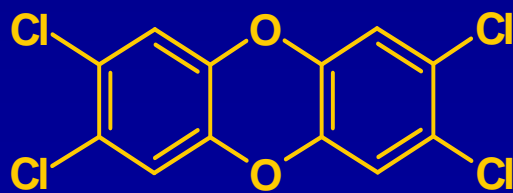
PCBs	209	Isomères/Congénères	Dioxin-like/Non Dioxin-like
PCDDs	75	Isomères/Congénères	
PCDFs	135	Isomères/Congénères	

Evaluation de la toxicité à partir des concentrations des congénères

$$\text{TCDD-TEQ} = \sum_i \text{TEF} \times c_i \text{ ng/kg}$$

TEF = Toxicity Equivalent Factor

c_i = Concentration du congénère



Dioxine de Seveso

Agent Orange

Herbicides sélectifs 2,4 D & 2,4,5-T

Défoliants employés par armée US au Viêt Nam de 1961 à 1971

2,4,5 -T = contaminé par TCDD ⇒ nombreuses pathologies suspectées

80 mio L de défoliant déversés estimé par National Academy of Sciences

État fédéral US bénéficiant de l'immunité en temps de guerre

⇒ vétérans US victimes, retournés vers fabricants du 2,4,5-T

En 1984, Monsanto & 6 entreprises ⇒ signé un accord à l'amiable avec vétérans en échange de l'arrêt de toute poursuite & versement de 180 mio USD à un fonds de compensation

Nombreux autres recours controversés en justice

Dow & Monsanto condamnés à 62 mio USD de compensation en Corée en 2006

Epidémiologie

Estimation: 2,1 à 4,8 mio Vietnamiens (+ tous les autres) exposés aux TCDD

Vietnamiens nés après 1971 ⇒ taux élevés en TCDD

Conséquences suspectées: cécité, diabète, cancer, malformations congénitales

PCBs

Polychlorobiphényles

- Utilisés il y a 40 ans dans de nombreuses applications industrielles
- Malgré une interdiction internationale aux années 1970, ils sont toujours omniprésents comme polluants de l'environnement dans sédiments, sites d'enfouissement & écosystèmes
- Fin 1970 ⇒ neurotoxicité à faible dose chez animaux

Nombreuses études s'intéressant au potentiel de neurotoxicité de développement, aux effets chroniques de l'exposition périnatale aux PCBs & dioxines

A ce jour la majorité des études malgré charge élevée en PCBs chez les nourrissons allaités

⇒ effet bénéfique de l'allaitement sur le développement neurologique et cognitif est préférable aux laits de substitution

⇒ seulement les fœtus sont sensibles à l'exposition aux PCBs

Boersma ER, Lanting CI. Adv Exp Med Biol 478:271-287 (2000)

Jacobson JL, Jacobson SW. J Toxicol Clin Toxicol 40: 467-475 (2002)

Jorissen J. Adv Neonatal Care 7:230-237 (2007)

PCBs

Controversies about endometriosis

UIA Study, Antwerp

⇒ No statistically significant association between exposure to dioxin-like compounds & occurrence of endometriosis in infertile women

*Pauwels A, Schepens PJ, D'Hooghe T, Delbeke L, Dhont M, Brouwer A, Weyler J.
Hum Reprod 16:2050-2055 (2001)*

UCL Study, Brussels

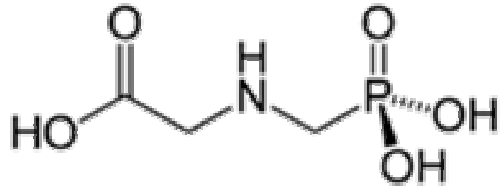
⇒ First epidemiological evidence of an association between increased PCDD/PCDF & PCB body burden & endometriosis

*Heilier JF, Nackers F, Verougstraete V, Tonglet R, Lison D, Donnez J. Fertil Steril
84:305-312 (2005)*

CDC Study, Atlanta

⇒ Serum concentrations of PCBs & PCDDs = low & similar for cases & controls & did not explain endometriosis in the study population

*Niskar AS, Needham LL, Rubin C, Turner WE, Martin CA, Patterson DG Jr, Hasty L,
Wong LY, Marcus M. Chemosphere 74:944-949 (2009)*



Glyphosate ROUNDUP



Glyphosate-based herbicide ROUNDUP used worldwide
i.e. on GMO plants

Some agricultural workers using ROUNDUP

⇒ pregnancy problems

Action mechanism in mammals = questioned ⇒ Adjuvant linked?

Risk assessment

NOAELs for all subchronic, chronic, developmental, & reproduction studies

⇒ under present & expected conditions of use ⇒ no health risk to humans

Williams GM, Kroes R, Munro IC. Regul Toxicol Pharmacol 31:117-165 (2000)

Inhibition of steroidogenesis

Disrupting steroidogenic acute regulatory protein expression

Walsh LP, McCormick C, Martin C, Stocco DM. Environ Health Perspect 108:769-776 (2000)

Chlordécone ou Képone

Produit phytosanitaire organochloré persistant

⇒ $t_{1/2}$ d'élimination dans sol: 4 à 50 ans

Fortes suspicions de toxicité ⇒ Interdiction USA (1976) & France (1990)

Utilisation inconsidérée de 1972 à 1993 contre le charançon du bananier aux Antilles françaises Guadeloupe & Martinique

⇒ contaminations locales des écosystèmes & aliments

⇒ fait la une des médias français en septembre 2007

Rapport AFSSA ⇒ ouvriers exposés de manière chronique & expérimentation animale: neurotoxicité, hépatotoxicité, néphrotoxicité, troubles de la spermatogénèse

IARC ⇒ classification 2B « cancérogène possible » pour l'homme

Diverses études INRA, INSERM & AFFSA incl. repro-toxicité en cours

Cabidoche YM, Achard R, Cattan P, Clermont-Dauphin C, Massat F, Sansoulet J. Environ Pollut 157:1697-1705 (2009)

Tributyl-étain (TBT) Bu_3Sn

- Emploi dans peintures anti-salissures sur coques des bateaux & filets
 - ⇒ problème pour l'environnement notamment à cause de sa repro-toxicité
- Effet perturbateur hormonal à faible dose chez gastéropodes
 - ⇒ masculiniser les femelles de certaines espèces aquatiques ⇒ **imposex**
 - ⇒ effets similaires suspectés sur d'autres espèces, dont l'Homme
- France = premier pays à limiter l'emploi du TBT pour protéger l'exploitation de coquilles Saint-Jacques, moules et huîtres qui dès 1975, paraissaient affectées par ce produit sur certaines zones du littoral atlantique.
- Lien avec TBT démontré dans les années 80, dans bassin d'Arcachon
- Interdiction en Europe en 2003

Régl 782/2003 J Officiel Europ L115

Additifs aux aliments et contaminants

Dichloropropanols

1,3-DCP = génotoxique pour les rats

contaminant d'hydrolysats de protéines végétales à partir du précurseur 3-monochloropropane-1,2-diol

⇒ Limitation des résidus de 3-MCPD en 1990 par CSAH

*von der Hude W, Scheutwinkel M, Gramlich U, Fissler B, Basler A.
Environ Mutagen 9:401-410 (1987)*

Dérivés imidazoliques dans colorant caramel III

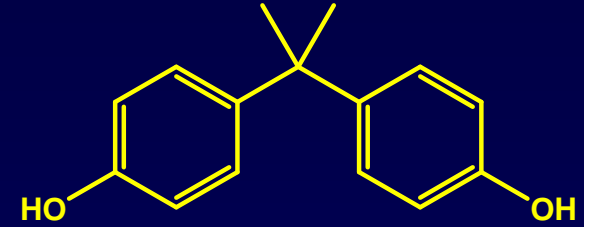
2-acétyl-4(5)-1,2,3,4-tétrahydroxybutyl-imidazole = THI

Immunotoxicité chez les rats

⇒ Limitation du THI à 10 mg/kg de caramel ammoniacé en 1994 par CSAH pour les bières brunes et sodas

Houben GF, Penninks AH. Toxicology 91:289-302 (1994)

Bisphénol A (BPA)



Oestrogéno-mimétique capable de se lier aux récepteurs- α des œstrogènes

⇒ **Activité** environ 1 000 X inférieure à celle de l'œstradiol

Synthétisé en 1891 par A. P. Dianin, étudié aux années 1930 en recherche d'œstrogènes de synthèse, jamais utilisé à cause de la découverte à la même époque du DES aux propriétés plus intéressantes

Production mondiale 3 mio t / an dans fabrication industrielle de matières plastiques ⇒ Polycarbonates pour CDs, lunettes solaires, biberons, ...

Etudes animales

⇒ perturbation du développement de l'oocyte à plusieurs stades

⇒ effets nocifs sur processus méiotique dépendrait en partie de l'alimentation

Muhlhauser A, Susiarjo M, Rubio C, Griswold J, Gorence G, Hassold T, Hunt PA. Biol Reprod 80:1066-1071 (2009)

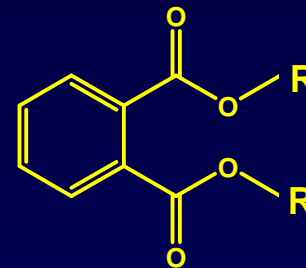
Bisphénol A

- **Canada = premier pays** ⇒ interdiction du BPA dans biberons pour réduire l'exposition des nouveau-nés & nourrissons en juin 2009

Conclusion de « Environment Canada »

- **Taux d'exposition actuels**
 - ⇒ pas un danger pour la santé, mais risque d'accumulation
- **La Californie a suivi l'exemple canadien en juin 2009**
- **Pour la FDA en 2008 ; pas de risque sanitaire aux taux d'exposition actuels**
- **Union Européenne - Directive matières d'emballage 2004/19/EC**
 - ⇒ limite de migration pour BPA < 0.6 mg/kg
- **En 2006 AESA utilisant un facteur d'incertitude de 100, ↗ DJT temporaire de 0,01 mg/kg à une DJT totale de 0,05 mg/kg**
- **BPA = biodégradable contrairement aux décisions canadiennes**

Phtalates



- 3 mio t / an utilisés dans applications industrielles
- Biodégradables dans environnement, parfois persistant en milieu aquatique ⇒ sédiments ⇒ biodégradation difficile en mode aérobie
- **Toxicité di-2-éthylhexylphthalate DEHP** ou DOP (le plus employé)
⇒ mise en évidence propriétés repro-tox & caractère cancérigène sur les rongeurs a provoqué inquiétudes
- En 2005 EFSA admet une DJTg de 0,15 mg/kg

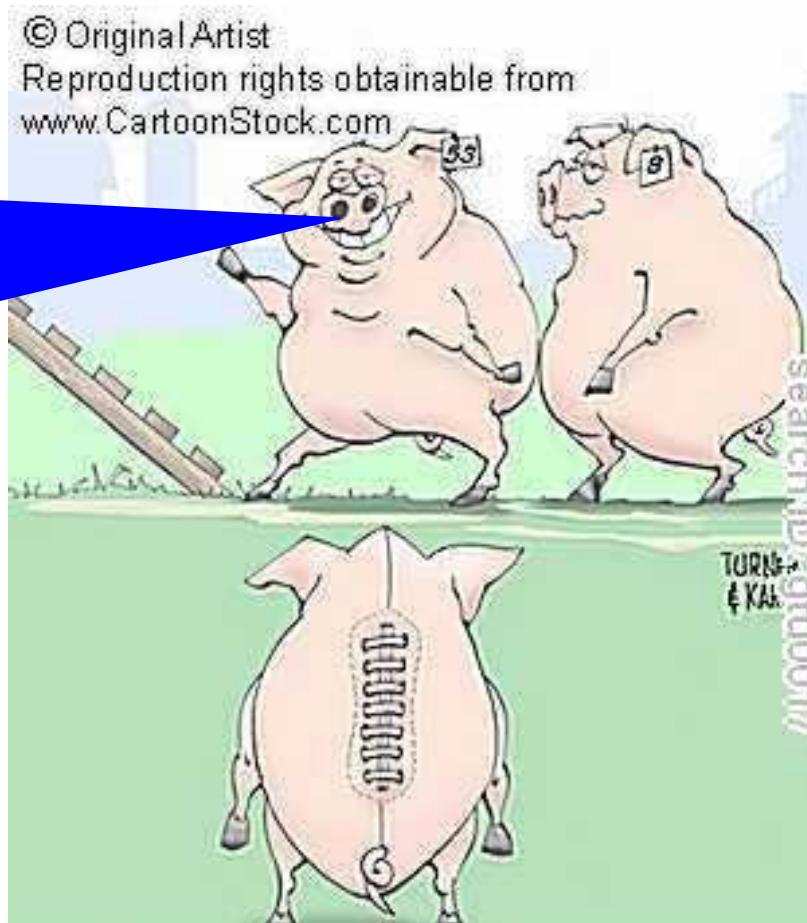
Evaluation du DEHP classé anti-androgène

Etude des cellules de Leydig foétales & adultes chez des rats mâles Long-Evans exposés *in utero* & au cours lactation

⇒ perturbation de la stéroïdogénèse

Lin H, Lian QQ, Hu GX, Jin Y, Zhang Y, Hardy DO, Chen GR, Lu ZQ, Sottas CM, Hardy MP, Ge RS. Biol Reprod 80:882-888 (2009)

Taré par une horrible malformation de naissance, le pauvre porc doit se balader toute sa vie à la ferme, tandis que nous autres porcs nous pouvons aller à la foire...



Merci de votre attention