



**56èmes JOURNÉES MÉDICALES HAVRAISES
LE HAVRE 24 Janvier 2020**

PERTURBATION ENDOCRINIENNE ET RÉSILIENCE

Dr Marie-Odile SOYER-GOBILLARD, PH.D.

**Directeur de Recherche Emérite Honoraire au C.N.R.S.
Présidente de l'Association HHORAGES-France**

**En collaboration avec Charles SULTAN, MD, PH.D., (2), Laura GASPARI, M.D., (2),
Françoise PARIS, MD, (2), Philippe COURTET, MD, PH.D., (3), Nicolas KALFA,
MD, PH.D (2).**

- 1 - C.N.R.S., Sorbonne Université, Paris 6-Laboratoire Arago & Association Hhorages France**
- 2 - Unité d'Endocrinologie et Gynécologie Pédiatriques, Hôpital Arnaud de Villeneuve, CHU-Université de Montpellier**
- 3 - Urgences Psychiatriques, Hôpital Lapeyronie, CHU-Université de Montpellier**



Je n'ai pas de conflit d'intérêt financier!

Résilience: (Physique): Caractérise la résistance au choc d'un solide.

(Psycho): Aptitude d'un individu à se (re)construire et à vivre de manière satisfaisante en dépit de circonstances traumatiques. Terminologie mise en valeur par le Neuropsychiatre Boris Cyrulnik.

Perturbation endocrinienne

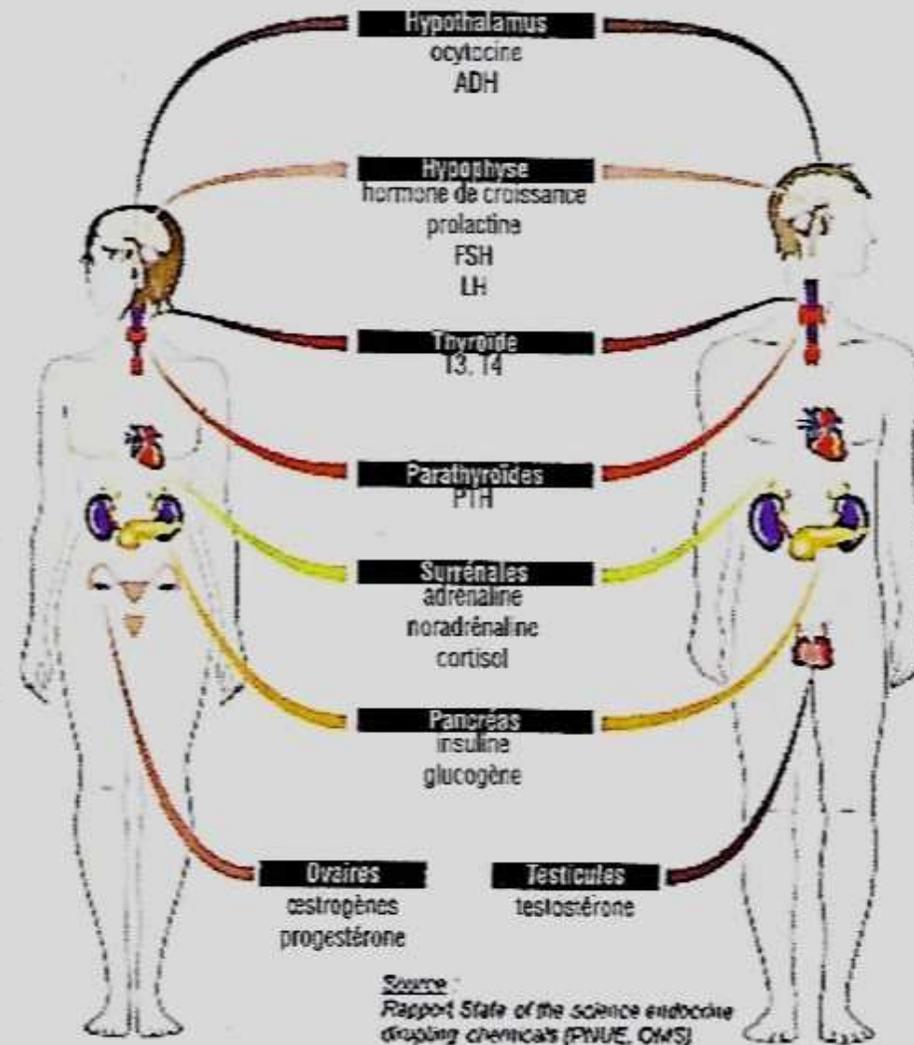
Définition générale

PE ou: *leurre hormonal, xéno-oestrogène, disrupteur endocrinien...*

Fin du 20^{ème} siècle

Définition de l'EPA

« Un agent exogène qui interfère avec la production, la libération, le transport, le métabolisme, la liaison, l'action ou l'élimination des ligands naturels responsables du maintien de l'homéostasie et de la régulation du développement de l'organisme ».







Un exemple vécu, parmi d'autres...

6

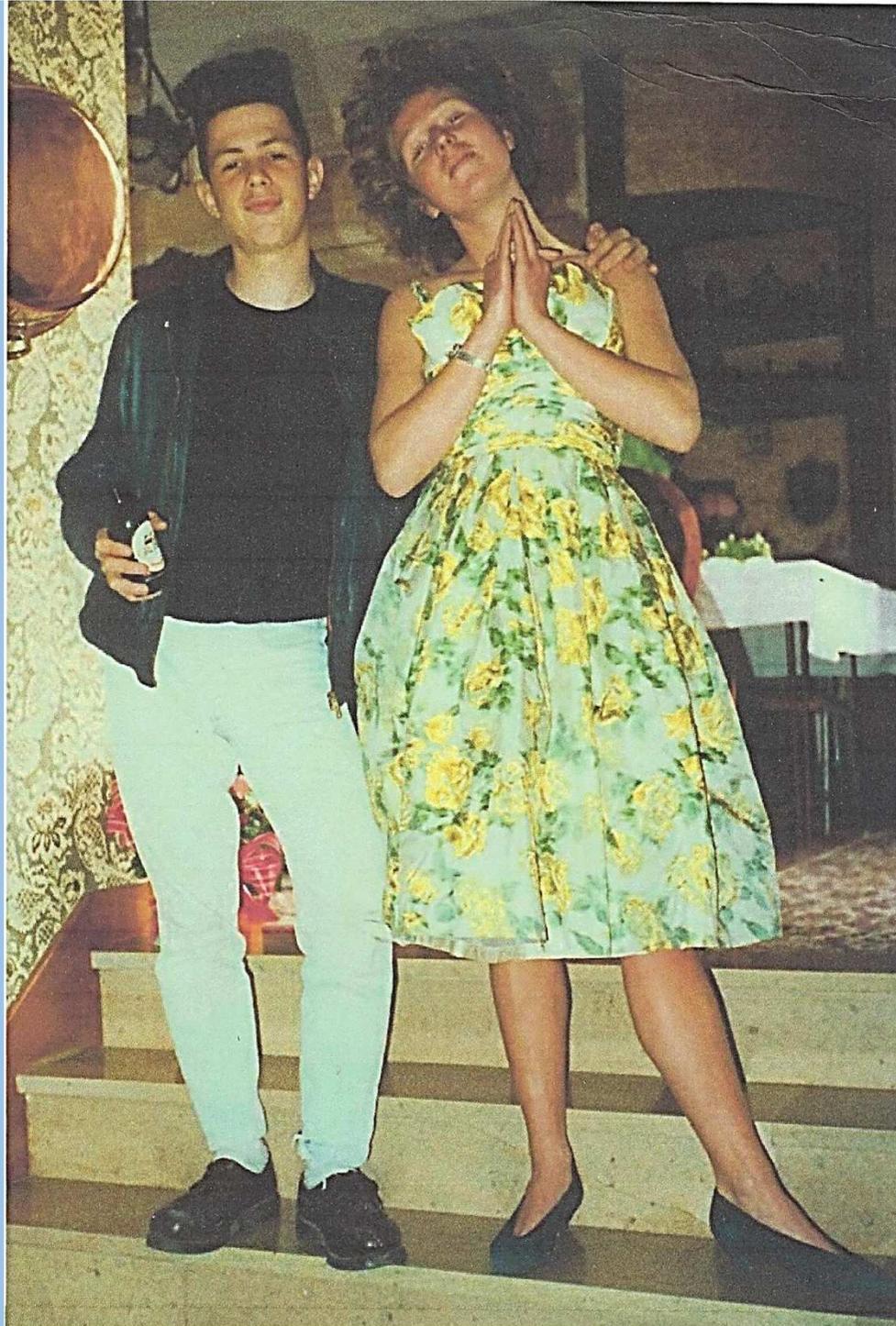
Doses et périodes d'administration d'un cocktail d'hormones artificielles pendant 2 grossesses successives

Antécédents : 1 Fausse couche à 6 semaines d'aménorrhée 2 ans auparavant. Hystérogographie normale. **Dosages hormonaux déficitaires.**

1^{ère} grossesse : 1966-67. A 7 semaines d'aménorrhée : Ethinyl estradiol **100µg/j** ($19\mu\text{g}/\text{kg}^{-1}/\text{j}$). De la 10^e à 20^{ème} semaine : Distilbène 15mg/j ($288\mu\text{g}/\text{kg}/\text{j}$) + EE 100µg/j. De la 20^e à 37^{ème} semaine : Distilbène 15mg/j + EE 250µg/j ($48\mu\text{g}/\text{kg}^{-1}/\text{j}$) + Progestérone retard 500mg/semaine ($9,6 \text{ mg}/\text{kg}/\text{sem}$). Accouchement à terme Fille score d'Apgar 10/10. Aucun problème lors de la grossesse.

2^{ème} grossesse : 1970-71. A 6 semaines d'aménorrhée : EE **250 µg/j**. De 8^{ème} à 37^{ème} semaine : EE 500µg/j+Distilbène 25 mg+ Progestérone retard 500mg/j. Accouchement à terme. Garçon Score d'Apgar 10/10. Aucun problème lors de la grossesse.

« **Vingt ans après** » : 1^{er} enfant (fille) Dépressions récurrentes + TCA, 14 TS puis S en 1995 (28 ans). 2^{ème} enfant (garçon) Schizophrénie dite « border line ». Suicide en 1998 (27 ans).





Un autre regard

Union Nationale des Amis et Familles de Malades Mentaux et de leurs Associations.
Association créée en 1963. Reconnue d'Utilité Publique.
Membre du Comité d'Entente des Associations Représentatives
de Personnes Handicapées et de Parents d'Enfants Handicapés.
Membre de l'Eufami (Europe).

Appel aux familles

De 1950 à 1976 on a prescrit à des femmes enceintes, pour prévenir des menaces d'avortement spontané (fausse couche) des traitements hormonaux associant en général un progestatif (progestérone retard Lutéran) à des oestrogènes de synthèse (Diéthylstilbène, Ethinylestradiol, Cyclodène, Hexestiol). Le caractère tératogène de ces traitements a fait l'objet de nombreuses publications (3800 références dans l'Index Medicus pour le seul Diéthylstilbène). Lorsque ces traitements ont été donnés ou prolongés au cours des deuxième et troisième trimestres de la grossesse, période cruciale pour le développement et la différenciation du cerveau du fœtus, ils ont pu perturber ce développement et entraîner différenciation avec pour conséquence des anomalies de la neurotransmission. Ces anomalies n'apparaissent avec évidence qu'à la post-adolescence de l'enfant et se traduisent par des troubles du comportement ou des troubles psychotiques, tels que troubles de la personnalité, dépression récurrente, névrose anxieuse, idéation paranoïde, anorexie, schizophrénie.

Si des familles peuvent relier la pathologie de leur enfant à ce type de traitement, nous les invitons à nous contacter, nous transmettrons leur courrier à une famille elle-même concernée, souhaitant établir un dialogue avec elles.

À la fin des années 1990, quelque part en France, un ingénieur agronome, M. R.A. fit l'observation que ses trois enfants souffraient de diverses pathologies psychiques et somatiques, l'aîné souffrant de cryptorchidie bilatérale, micropenis, infertilité en raison d'une azoospermie (pas de spermatozoïdes) et d'un caractère schizotypique, la seconde d'anxiété, de dépression et de troubles du comportement alimentaire (anorexie) couplé avec de petits utérus et ovaires, et le troisième souffrant de schizophrénie et de dépression sévère associée à des tentatives de suicide. Il a également observé la relation avec le fait que dans les trois cas, sa femme avait reçu un traitement médical consistant en un cocktail d'hormones synthétiques:

Synthèse des traitements lors des 3 Grossesses

**Yves (22/05/1966) 1 comprimé Distilbène 25/jour
1 comprimé Ethinyl Estradiol Roussel 500µg/jour
1 injection Progestérone retard Pharlon 125mg/semaine**

**Pascale (27/06/1969) 1 comprimé Ethinyl Estradiol Roussel 500µg/jour
1 injection Progestérone retard Pharlon 125mg/semaine**

**Xavier (17/03/1972) 1 comprimé Ethinyl Estradiol Roussel 500µg/jour
1 injection Progestérone retard Pharlon 125mg/semaine
Remplacée par 2 comprimés Lutéran/jour de la 5^{ème} à la 8^{ème} semaine**

Il fit des recherches dans la littérature mondiale sur le sujet, et en vint à la conclusion que non seulement l'un de ces produits, le diethylstilbestrol (DES) déjà connu pour ses méfaits avait continué à être administré en France jusqu'à 1977/82: le produit, peu coûteux à fabriquer, n'avait pas été breveté et a été fabriqué et distribué par de nombreux laboratoires pharmaceutiques. Il en va de même pour le 17-alpha Ethinyl Estradiol (EE), qui a été interdit pour les femmes enceintes seulement en 1980, mais reste l'oestrogène le plus vendu au monde parce qu'il est l'un des composants de la pilule contraceptive.

Il voulut exposer ses observations et les résultats de ses recherches bibliographiques lors d'une réunion d'association de familles de patients recueillant des observations sur les malformations génitales des filles exposées *in utero* au DES. Hélas, il fut condamné, rejeté et démenti par des médecins, principalement des gynécologues et des psychiatres, ainsi que par des membres de cette association.

Découragé, M. R.A. mourut peu après. Afin de poursuivre son travail et de regrouper les familles concernées par l'origine des pathologies psychiatriques lourdes de leurs enfants exposés *in utero*, et malgré le tabou entourant les maladies psychiatriques telles que les psychoses, nous avons rassemblé plusieurs mères concernées et créé en 2002 l'Association de patients: Hhorages, Halte aux HORmones Artificielles pour des GrossessES.

**A ce jour, plus de
1300 dossiers:
Près de 3000 grossesses
dont 1787 **exposées sur
Ordonnances**
(1456 enfants atteints
psy et/ou somat.)**

HHORAGES
FRANCE



**HALTE aux HORMONES
ARTIFICIELLES
notamment pour les
GROSSESSES**

Association nationale loi 1901
déclarée n° 2002-00276
affiliée à l'UNAFAM
7 allée des Dahlias
93 700 Drancy
01 48 95 26 11 (tél / fax)

L'Association Hhorages, créée en 2002, recueille les témoignages et aide les familles lourdement touchées par les troubles psychiatriques des enfants **exposés in utero et/ou porteurs de troubles somatiques (malformations, stérilité, cancers). Elle travaille en relation avec deux groupes de Recherche: **Endocrinologie et Psychiatrie** (CHU Montpellier: Pfr Sultan, Pfr Courtet), **Psychiatrie Moléculaire** (CERC, Ste Anne Paris: Pfr Krebs, Dr Kebir).**

Synthétisé par Dodds* en 1938, (comme le BPA et l'Ethinylestradiol), le diethylstilbestrol, (DES) hormone sexuelle, estrogène de synthèse, fait son apparition en France en 1940 bien que dès 1938 et 39 des études sur l'animal aient montré ses effets carcinogènes et toxiques. A partir de 1949 les américains O. et G. Smith** préconisent le DES pour les femmes susceptibles de faire une FC, celle-ci provoquant selon eux une chute du taux hormonal.

*Dodds, E.C., Goldberg, L., Lawson, W., Robinson, R. (1938). Estrogenic activity of certain synthetic compounds. Nature 141: 247-248.

**Smith, O.W., Smith, G.V. (1949).The influence of diethylstilbestrol on the progress and outcome of pregnancy as based on a comparison of treated with untreated primigravidas. American journal of Obstetric and Gynaecology 58:994-1009.

***Smith, O.W., Smith, G.V. (1949).Use of diethylstilbestrol to prevent foetal loss from complications of late pregnancy. New England Journal of Medicine 241: 562-568.

Or, dès 1953, W. J. Dieckmann* montre que le DES n'est *pas plus efficace qu'un placebo* pour prévenir les avortements spontanés. On sait maintenant que la *chute du taux hormonal* accompagnant une éventuelle FC antérieure *n'est pas la cause d'avortement spontané mais sa conséquence!*

Hélas la communauté scientifique reste sourde à ses travaux! Aux USA, il n'est supprimé aux femmes enceintes qu'en 1971* quand Herbst** découvre chez les Filles-DES un cancer spécifique (ADCC: adénocarcinome à cellules claires du vagin). Malgré cela il est administré en France jusqu'en 1977, 1981 en Italie et 1983 en Hongrie!**

*Dieckmann, W.J., Davis, M.E., Rynkiewicz, LM, Pottinger, R.E. (1953). Does the administration of diethylstilbestrol during pregnancy have therapeutic value? American Journal of Obstetrics and Gynaecology 66: 1062-1081.

**Herbst, A.L., Ulfelder, H., Poskanzer, D.C. (1971). Adenocarcinoma of the vagina. Association of maternal stilbestrol therapy with tumor appearance in young women. New England Journal of Medicine 284 (15): 878-881.

***United States Food and Drug Administration. FDA drug experience monthly bulletin. Diethylstilbestrol contraindicated in pregnancy. Washington DC Department of Health, Education and Welfare 1971.

1940

Distilbène

Œstrogène de synthèse beaucoup plus actif et beaucoup moins coûteux que la Folliculine.

Présentation et Composition :

Distilbène 1 : dragées à un milligramme de diéthylstilbœstrol.

Distilbène 5 : dragée à cinq milligrammes.

Indications et posologie :

Aménorrhée primitive-castration : 3 dragées de un milligramme *pro die*, 10 jours chaque mois, avant l'époque présumée des règles.

Aménorrhée secondaire-oligoménorrhée : 1 à 2 dragées de cinq milligrammes tous les deux jours pendant les 10 jours qui précèdent les règles.

Troubles de la ménopause et de la castration : Un milligramme par jour, 16 jours par mois, au besoin cinq milligrammes *pro die*.

Dysménorrhée : 1 à 3 dragées de un milligramme tous les deux jours pendant les 15 jours qui suivent les règles.

Stérilité : 1 à 2 dragées de un milligramme durant 3 semaines par mois et avant les règles.

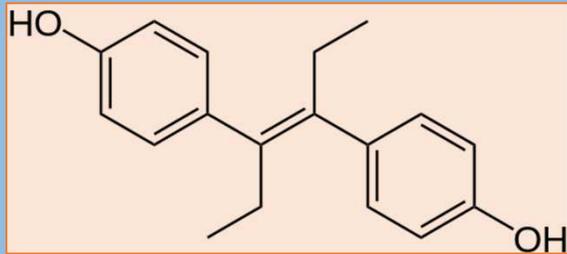
Affections non génitales d'origine ovarienne : Un à trois milligrammes par jour jusqu'à l'obtention d'un résultat. La cure doit être interrompue pendant la période existante présumée des règles.

Prix

Distilbène 1 : La boîte de	25 dragées	18 fr.
1 :	de 100	50 fr.
5 : La boîte de	25 dragées	40 fr.
4 :	100	100 fr.

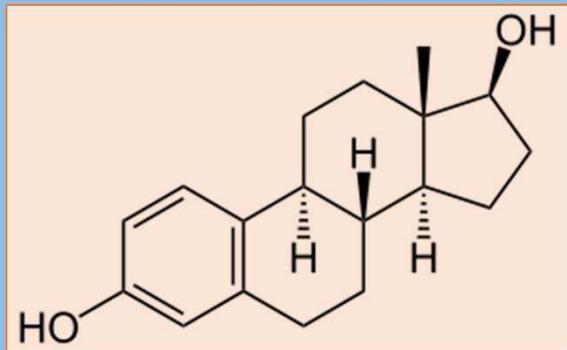
Laboratoire M. BORNE

79, rue de Paris - Saint-Denis (Seine) Tel. Plaine 24-30.



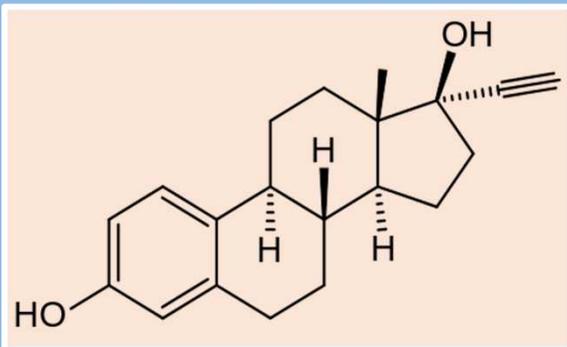
Diethylstilbestrol (DES):

Diphénol de synthèse non stéroïdien aux propriétés oestrogéniques puissantes. Très lipophile, sa métabolisation dans l'organisme est une dégradation très néfaste, qui libère des structures de type « Quinone » (cancérigènes) fortement réactives vis-à-vis des protéines et surtout **pouvant se lier à l'ADN** au niveau des différentes bases qui le constituent.



L'hormone naturelle 17-béta-Estradiol

non toxique est un composé lipophile qui devrait donc se fixer sur les lipides MAIS grâce aux enzymes de détoxification du type Cytochrome P-450, il sera éliminé sous forme de produit hydrosoluble, que l'on va retrouver rapidement dans les urines sous forme de sulfate.



Le 17-alpha-Ethinyl-Estradiol (EE) (synthétique et toxique),

souvent associé au DES est lipophile lui aussi. Il subit d'autres voies de métabolisation qui conduisant à l'inactivation du cytochrome P-450. Il restera donc fixé au niveau des lipides chez la mère ou chez la jeune femme.

Non, le *Distilbène® (DES)* ce n'est pas de l'histoire ancienne! Ce perturbateur endocrinien poursuit ses dégâts sur plusieurs générations, ses *effets trans-générationnels* ont été démontrés aussi bien chez l'animal que chez l'Homme...

Non, *l'Ethinylestradiol (EE)* estrogène de synthèse, n'est pas un médicament anodin: comme le DES, il a été synthétisé en 1938, prescrit en cocktail avec lui ou en remplacement, puis interdit pour les femmes enceintes seulement en 1980...Mais c'est l'estrogène de synthèse le plus vendu au monde car il entre dans la composition de la pilule contraceptive..

Quant à la *Progestérone synthétique (Progestin)*, très souvent utilisée en injections retardes, nous venons de démontrer sa toxicité dans une publication récente*; elle est également associée à l'EE dans la pilule contraceptive et vient de démontrer sa toxicité dans les cancers du sein lorsqu'elle est utilisée seule couplée à un stérilet...**

* Soyer-Gobillard, M.O. et al., Neurodevelopmental disorders in children exposed *in utero* to progestin treatment : Study of a cohort of 115 children from the HHORAGES Association. Gynecological Endocrinology. 2019, 35 (3), 247-250. <https://doi.org/10.1080/09513590.2018.1512968>

** Morch, L. et al., Contemporary hormonal contraception and the risk of breast cancer. The New England Journal of Medicine, december 2017, 377, 2228-2239.

*** Li, L. et al., Prenatal Progestin Exposure is associated with autism spectrum disorders. Frontiers in Psychiatry, 2018, 9, 1-12. [doi: 10.3389/fpsy.2018.00611](https://doi.org/10.3389/fpsy.2018.00611)

Nous avons élaboré ce QUESTIONNAIRE préparé avec des chercheurs et des médecins et envoyé aux grands-mères et/ou aux fils et filles DES.

Situation de la mère: nom, prénom, date de naissance, adresse, numéro de téléphone, numéro de téléphone professionnel, numéro de mobile, adresse E-mail

Situation familiale, nombre d'enfants, prénoms et dates de naissance des enfants. Situation professionnelle.

Pilule prise: avant la première grossesse, et entre les grossesses

Traitement hormonal avant la grossesse (ou grossesses). (Si un traitement a été prescrit, veuillez indiquer la nature du traitement et le temps écoulé entre la fin du traitement et le début de la grossesse)

Fausse couche (s): indiquer le moment où elle s'est produite, par rapport aux autres grossesses à terme, le cas échéant (avant le premier, ou entre deux grossesses à terme)

Exposition professionnelle aux hormones, aux produits chimiques (pesticides, etc...) Antécédents familiaux psychiatriques ou psychopathologiques (père, mère,...) Problèmes de santé après la naissance du premier enfant

Grossesse et accouchement (pour plus de 2 enfants, T.O.P.)

1er enfant, 2ème enfant

Traitement pendant la grossesse: (oui/non)-nature des médicaments-doses – A quel moment pendant la grossesse (premier et dernier jour de traitement, exprimée en semaines depuis le début de la grossesse)?

Quelle raison médicale a été mise en avant (fausse couche possible, confort, etc...)?

État général de l'enfant, sexe, poids, problèmes de santé à la naissance (mère et enfant) documents existants (ordonnances, dossiers médicaux, etc...) et témoignages

Seriez-vous assez aimable de nous envoyer les copies des dossiers et des documents? Si oui, afin de gagner du temps, veuillez joindre les copies de tous les documents relatifs en votre possession.

Problèmes de santé de vos enfants (pour plus de 2 enfants, T. O. P.)

1er enfant, 2e enfant prénom, sexe, date de naissance, rang dans l'ordre des frères et sœurs troubles physiques: lesquels? Quel âge?

Traitement de stérilité? Chirurgie?

Troubles psychologiques: nature des premiers symptômes? Quel âge? Aggravation subséquente? Et à quel âge?

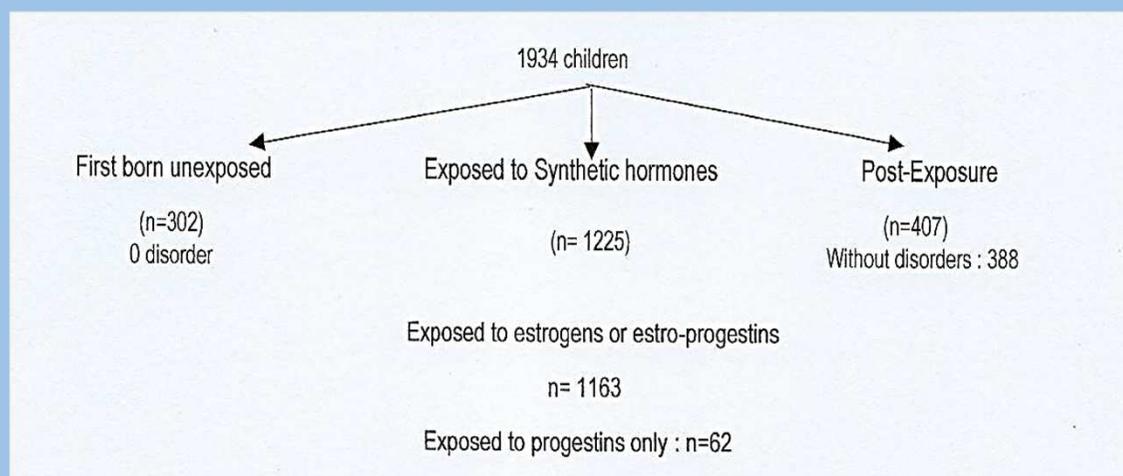
Autres données: hospitalisation, violence, tentative (s) de suicide, traitements médicaux, diagnostic, AAH, invalidité?

Difficultés relationnelles: dans la vie conjugale, dans la vie professionnelle?

Enfants, petits-enfants: combien?

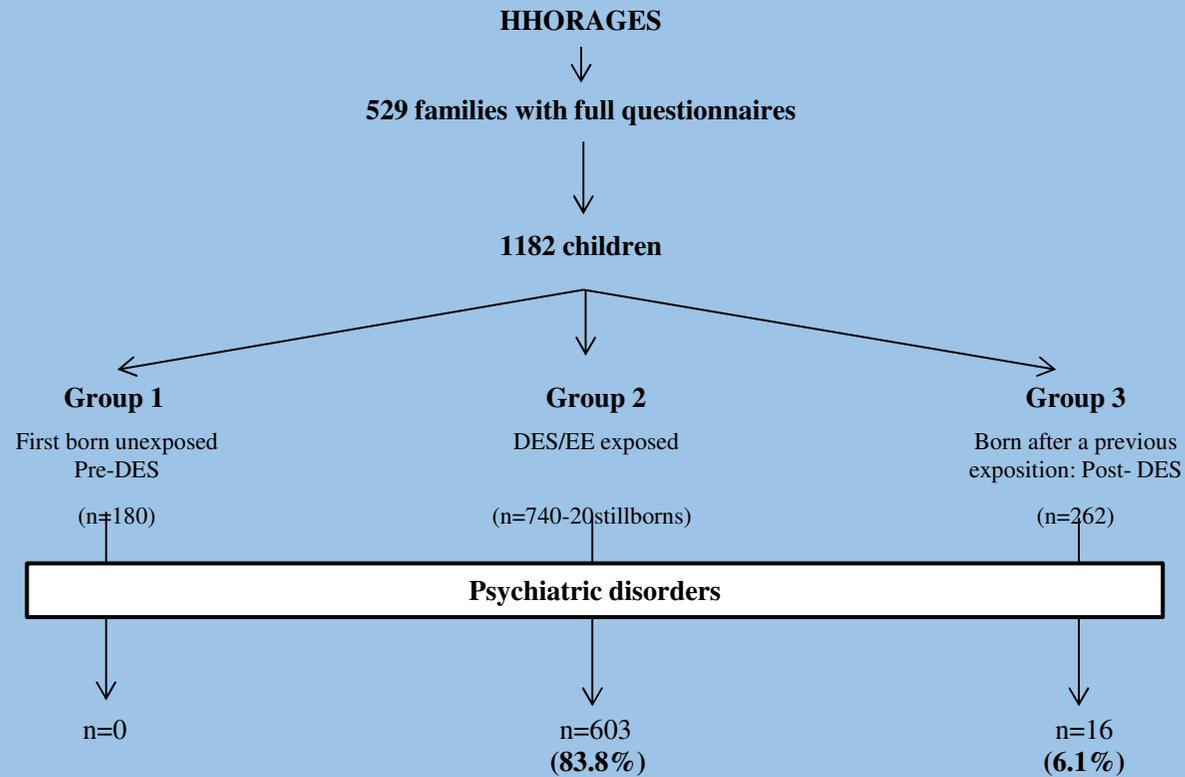
Inscription à la CNIL (Commission nationale pour la liberté et l'informatique) 04-2002.

La cohorte de HHORAGE * est maintenant inscrite au portail épidémiologique des bases de données sur la santé française de l'INSERM (Institut national de la recherche médicale) et AVIESAN (Alliance nationale pour les sciences de la vie et la santé) (epidemiologie-france.aviesan.fr). En 2019, notre cohorte était constituée de:



M.O.Soyer-Gobillard, L. Gaspari & Ch. Sultan. 2018. Evidence for link between mental disorders and *in utero* exposure to synthetic hormones: A long and crucial history. In: « Mental disorders ». IntechOpen Ed.in press.18pp.

**MISE EN EVIDENCE DU LIEN ENTRE EXPOSITION *IN UTERO* AUX
ESTROGENES DE SYNTHESE (Diethylstilbestrol, Ethinyl Estradiol)
ET
TROUBLES PSYCHIATRIQUES chez les enfants exposés**



Suicides: n=33
Tentatives de Suicide : n= 642

Gynecological Endocrinology, 2016, 32 (1), 25-29. MO Soyer-Gobillard, F Paris, L Gaspari, Ph Courtet, Ch Sultan. Association between fetal DES-exposure and psychiatric disorders in adolescence /adulthood: evidence from a French cohort of 1002 prenatally exposed children.

ORIGINAL ARTICLE

Association between fetal DES-exposure and psychiatric disorders in adolescence/adulthood: evidence from a French cohort of 1002 prenatally exposed children

Marie-Odile Soyer-Gobillard¹, Françoise Paris², Laura Gaspari², Philippe Courtet³, and Charles Sultan²

¹Centre National de la Recherche Scientifique, Unité Mixte de Recherche 7628, Université Paris 6 and Association HHORAGES-France, Asnières sur Oise, France, ²Unité d'Endocrinologie-Gynécologie Pédiatrique, Service de Pédiatrie, Hôpital Arnaud de Villeneuve, CHU Montpellier and Université Montpellier, Montpellier, France, and ³Département d'Urgence et Post Urgence Psychiatrique, CHU Montpellier & Université Montpellier, Montpellier, France

Abstract

In utero diethylstilbestrol (DES) exposure has been demonstrated to be associated with somatic abnormalities in adult men and women. Conversely, the data are contradictory regarding the association with psychological or psychiatric disorders during adolescence and adulthood. This work was designed to determine whether prenatal exposure to DES affects brain development and whether it is associated with psychiatric disorders in male and female adolescents and young adults. HHORAGES Association, a national patient support group, has assembled a cohort of 1280 women who took DES during pregnancy. We obtained questionnaire responses from 529 families, corresponding to 1182 children divided into three groups: Group 1 (*n* = 180): firstborn children without DES treatment, Group 2 (*n* = 740): exposed children, and Group 3 (*n* = 262): children born after a previous pregnancy treated by DES. No psychiatric disorders were reported in Group 1. In Group 2, the incidence of disorders was drastically elevated (83.8%), and in Group 3, the incidence was still elevated (6.1%) compared with the general population. This work demonstrates that prenatal exposure to DES is associated with a high risk of psychiatric disorders in adolescence and adulthood.

Keywords

Adolescence, adulthood, prenatal DES exposure, psychiatric disorders, suicide

History

Received 9 May 2015
Accepted 14 June 2015
Published online 14 July 2015

Introduction

From the 1950s to the late 1970s, millions of women took diethylstilbestrol (DES) during pregnancy to prevent miscarriages and premature births, to inhibit the milk inflow after childbirth, or to treat infertility, primary or secondary amenorrhea, dysmenorrhea and other gynaecological disorders [1]. Strikingly, DES continued to be used despite various alerts that were published as early as 1940 [1] and the demonstration of Dickmann *et al.* [2] that DES was ineffective in preventing miscarriage or premature birth. In 1971, it emerged that *in utero* DES exposure was associated with somatic effects in adulthood, including female genital abnormalities [3,4], vaginal cancer [5], and male urogenital disorders [6]. In experimental studies, mice exposed to DES during gestation were found to be more aggressive than controls [7], and the offspring of rats treated by intraperitoneal administration of another synthetic estrogen, ethinylestradiol (EE), were shown to present altered emotional states like anxiety and depressive-like behaviors [8,9]. In humans, only three large epidemiological studies [10–12] and seven studies on a small number of exposed subjects (as summarized in the critical review of Kebir and Krebs) [13] have pointed out a risk of psychological

or psychiatric disorders during adolescence or post-adolescence after *in utero* DES exposure. However, the data are discrepant [11] regarding the impact of DES on the developing fetal brain and the consequences for adolescents and adults. The aim of this work was to determine whether prenatal exposure to DES can induce psychological and/or psychiatric disorders in teenagers and young adults.

Materials and methods: The HHORAGES cohort

The HHORAGES Association (Halt to Synthetic Hormones for Pregnancies), a patient support group, has assembled a cohort of 1280 women who took DES during pregnancies. A detailed questionnaire (Table 1) was prepared and validated by researchers and doctors and sent to these families. As psychiatric diseases generally appear in the post-adolescent period, after 18 years, the questionnaire concerned people born between 1946 and 1995. An authorization request was sent to the French "Commission Nationale de l'Informatique et des Libertés" (CNIL), which authorized the use of the questionnaire. We included items on patient sex, rank among siblings, specific exposure during gestation (DES alone or in association with EE), and somatic and psychiatric disorders.

Out of these 1280 families, 529 families responded to this extensive questionnaire, providing information on the family history; the mother's hormone treatment before and during pregnancy; medical records, including prescriptions; and the health problems of the children, including diagnoses and any

Address for correspondence: Dr. Marie-Odile Soyer-Gobillard, PhD, Centre National de la Recherche Scientifique, Unité Mixte de Recherche 7628, Université Paris 6 and Association HHORAGES-France, 95270 Asnières sur Oise, 78 Avenue Guynemer, F-66100 Perpignan, France. E-mail: mog66@orange.fr

Table 3. Total number of psychological/psychiatric disorders among the 982 (1002-20 stillborns) DES-exposed and post-DES children.

Among the 982 DES-exposed adolescents (1002-20 stillborns) (Group 2) and post-DES adolescents (Group 3):

Behavioral disorders, violence, aggressiveness, obsessive-compulsive disorders ($n = 110$)	(11.2%)
Eating disorders ($n = 83$)	(8.4%)
Schizophrenia ($n = 171$)	(17.4%)
Depression, bipolar disorders, anxiety ($n = 257$)	(26.2%)
Suicides ($n = 33$)	(3.4%)
Suicide attempts ($n = 642$)	(65.4%)

MO Soyer-Gobillard, F Paris, L Gaspari, Ph Courtet, Ch Sultan. Association between fetal DES-exposure and psychiatric disorders in adolescence /adulthood: evidence from a French cohort of 1002 prenatally exposed children. *Gynecological Endocrinology*, **2016**, 32 (1), 25-29.

Table 4. Prevalences of the psychological and/or psychiatric disorders and comparison with the general population.

	Group 2	Group 3	Group 1	General Population
	DES-exposed (n = 740-20)	Post-DES (n = 262)	Firstborn pre-DES (n = 180)	
Behavioral disorders	(n = 109) (15.1%)	(n = 1) (0.4%)	(0%)	(3%)
Eating disorders	(n = 81) (11.3%)	(n = 2) (0.8%)	(0%)	(1.6%)
Schizophrenia	(n = 165) (22.9%)	(n = 6) (2.3%)	(0%)	(1%)
Depression	(n = 248) (34.4%)	(n = 9) (3.4%)	(0%)	(6.3%)
Suicides				
Attempts	(n = 612) (85%)	(n = 30) (11.5%)	(0%)	(0.3%)
Death	(n = 32) (4.4%)	(n = 1) (0.4%)	(0%)	(0.02%)

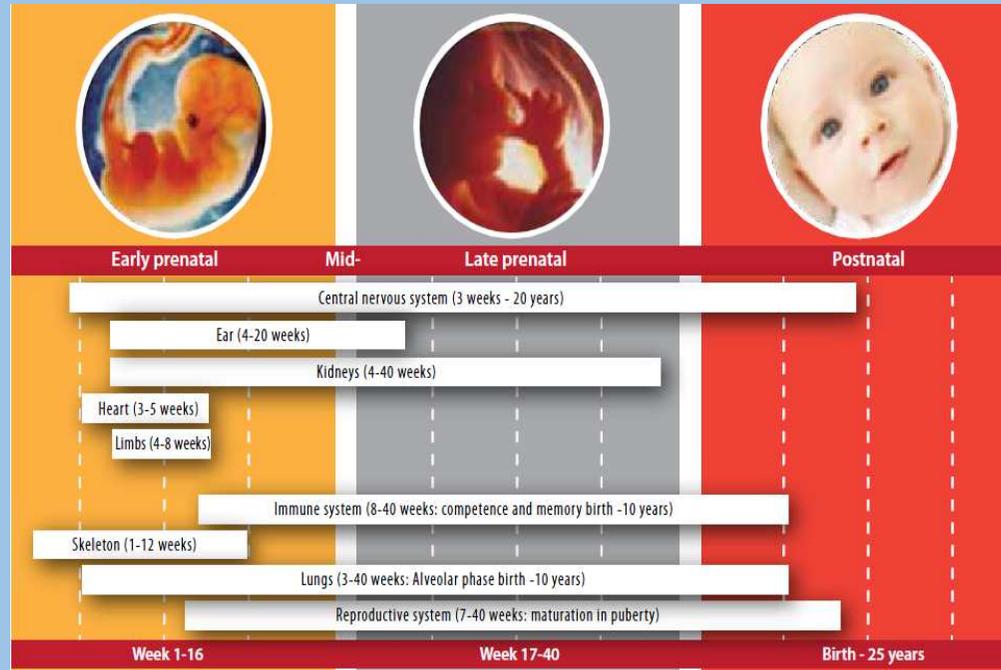
MO Soyer-Gobillard, F Paris, L Gaspari, Ph Courtet, Ch Sultan. Association between fetal DES-exposure and psychiatric disorders in adolescence /adulthood: evidence from a French cohort of 1002 prenatally exposed children. *Gynecological Endocrinology*, 2016, 32 (1), 25-29.

Nous montrons dans ce travail que l'exposition prénatale au diéthylstilbestrol et/ou à l'éthinylestradiol est associée sans équivoque à des troubles psychiatriques lourds apparus lors de l'adolescence ou de la post adolescence. Ces troubles sont accompagnés ou non de troubles somatiques, malformations génitales et/ou cancers.

Afin d'établir le lien moléculaire entre exposition in utero au DES et troubles psychiatriques, nous avons proposé cette hypothèse au groupe du Professeur KREBS (Cerc, Hôpital Ste Anne, Paris, Laboratoire Inserm S 894) et obtenu en 2007 un financement de la Région Ile de France par le biais d'un projet PICRI (Partenariat Institution Citoyen pour la Recherche et l'Innovation) dont le titre était le suivant:

« Influence des traitements hormonaux sur le développement cérébral pendant la grossesse: étude des modifications phénotypiques, psychiatriques, comportementales et biologiques dans des familles informatives ».

Le cerveau est un organe très vulnérable, le Neuro-développement couvrant une période très large s'étendant de l'étape prénatale précoce (3ème semaine de la grossesse) pour se terminer vers l'âge de 20 ans. Au cours de son développement, il y a des moments où sa vulnérabilité est encore plus grande qu'à d'autres; ces périodes sont appelées "fenêtres de tir ", au cours desquelles l'environnement peut avoir un impact particulier sur le processus normal de développement.



Fenêtres de vulnérabilité:

Au cours des 40 semaines de la grossesse et au-delà, on distingue :

Le stade prénatal précoce : 1^{ère} à 16^{ème} semaine

Le stade prénatal tardif : 17^{ème} à 40^{ème} semaine

Le stade post natal: de la naissance à 20 ans.

Le Système nerveux central se développe de la 3^{ème} semaine à 20 ans.

À partir de l'hypothèse que les maladies psychiatriques se développent à partir d'un **dysfonctionnement du cerveau qui peut se produire dès les premiers stades du développement neurologique**, et sachant que le DES et l'EE sont des hormones de synthèse, **perturbateurs endocriniens**, Kebir et Krebs * ont été en mesure d'analyser à partir de nos données un petit nombre de dossiers familiaux issus des témoignages d'HHORAGES: en 2012, ils ont étudié une cohorte de 472 sujets exposés qui présentaient:

46,7% des troubles de l'humeur,
22,9% des troubles psychotiques,
6,6% des troubles anxieux,
11% des troubles de l'alimentation et
12,7% d'autres troubles (violences, troubles du comportement obsessionnels..)

*Kebir O, Krebs, MO (2012) Diethylstilbestrol and risk of psychiatric disorders: A critical review and new insights. *The World Journal of Biological Psychiatry*, 13 (2): 84-95. HHORAGES

La première étape de la recherche a été de s'intéresser à cette nouvelle discipline scientifique qu'est l'épigénétique*. Comme son nom l'indique, les chercheurs qui pratiquent cette science cherchent à comprendre comment l'environnement (littéralement « ce qui est autour ») peut modifier l'expression d'un gène, de sorte qu'apparaissent par la suite des phénotypes de maladies, et des troubles du comportement. Aujourd'hui on a découvert comment le génome interagit avec l'environnement : par le biais de la méthylation, une modification biochimique sur l'ADN par ajout ou diminution d'un groupement méthyle (CH₃).

Ensuite, ils ont cherché à identifier des zones de méthylations dans le génome à partir de l'hypothèse de l'existence de modulation(s) épigénétique(s) **sur des gènes impliqués dans le neurodéveloppement et pouvant conduire à une vulnérabilité psychiatrique.**

Après une évaluation neuropsychiatrique des patients et des contrôles, ils ont analysé les changements de méthylation de 485 000 cytosines près guanine (CpG) par génome d'individus exposés (n = 37) versus non exposés (n = 32) (contrôles intrafamiliaux). Parmi eux, 7 psychoses lourdes (4 schizophrénies et 3 troubles psycho-affectifs) et 30 autres (bipolarité, dépression lourde, troubles anxieux) ont été dénombrés.

Dans cette étude, **le problème a été le nombre relativement restreint de patients psychotiques exposés** parce que nombreux furent ceux qui refusèrent d'aller effectuer un prélèvement sanguin à l'hôpital sainte Anne!

Methylomic Changes in Individuals with Psychosis, Prenatally Exposed to Endocrine Disrupting Compounds Lessons from Diethylstilbestrol

- ▶ *Fabrice RIVOLLIER* 1,2,3,4, *Boris CHAUMETTE* 1,2,3,4
- ▶ *Narjes BENDJEMAA* 1,2,3,4, *Mélanie CHAYET* 4
- ▶ *Bruno MILLET* 5, *Nematollah JAAFARI* 6
- ▶ *Amina BARHDADI* 7, *Louis-Philippe LEMIEUX PERREAULT* 7
- ▶ *Sylvie PROVOST* 7, *Marie-Pierre DUBE* 7
- ▶ *Raphaël GAILLARD* 1,2,3,4
- ▶ *Marie-Odile KREBS* 1,2,3,4,8, *Oussama KEBIR* 1,2,3,4, 8



1 Université Paris Descartes, Université Paris Sorbonne Paris Cité, Centre de Psychiatrie et Neurosciences, UMR S 894, Paris, France;

2 INSERM, Laboratoire de Physiopathologie des Maladies Psychiatriques, Centre de Psychiatrie et Neurosciences, UMR S 894, Paris, France;

3 CNRS, GDR3557-Institut de Psychiatrie, Paris, France;

4 Faculté de Médecine Paris Descartes, Centre Hospitalier Sainte-Anne, Service Hospitalo-Universitaire, Paris, France;

5 Department of Adults Psychiatry, ICM-A-IHU, UPMC UMR S 975, Inserm U 1127, CNRS UMR 7225, GH Pitié-Salpêtrière, Paris, France

6 Unité de recherche clinique en psychiatrie Pierre Deniker, Centre Hospitalier Henri Laborit, INSERM CIC-P 1402, INSERM U 1084 Laboratoire expérimental et clinique en Neurosciences, Univ Poitiers, CHU Poitiers, Groupement De Recherche CNRS 3557, Poitiers, France

7 Université de Montréal, Beaulieu-Saucier Pharmacogenomics Center, Montréal Heart Institute, Montréal, QC, Canada.

8 These authors contributed equally to this work.

Correspondance : Professor M-O Krebs, Laboratoire de Physiopathologie de Maladies Psychiatriques, Centre de Psychiatrie et Neurosciences, Service Hospitalo-Universitaire, INSERM U894—Université Paris Descartes, 2 ter rue d'Alesia, Paris 75014, France. E-mail: marie-odile.krebs@inserm.fr

RÉSULTATS: Des régions méthylées différentielles spécifiques (DMR) ont été localisées au niveau de deux gènes: le gène de la protéine à doigt de zinc **ZFP57** et au niveau du **promoteur du gène ADAM TS9** *.

Une hyperméthylation du gène ZFP57 a été observée dans le groupe **d'enfants exposés psychotiques**. Ce gène (localisé sur le chromosome 6) est exprimé très tôt dans le développement. Il s'agit d'un régulateur de transcription au niveau de nombreux gènes affectant en particulier le **neurodéveloppement** * *.

Le gène ADAM TS9 est impliqué dans le contrôle de la forme des organes, en particulier dans le développement et la fonction de l'utérus et des organes reproducteurs * * * (souvent anormaux après l'exposition in utero au DES), ainsi que dans le contrôle du développement du SNC * * * * et dans plusieurs types de cancers * * * *.

*Rivollier F, et al. (2017) Methylomic changes in individuals with psychosis, prenatally exposed to endocrine disrupting compounds: Lessons from diethylstilbestrol. PLoS ONE, (2017) ; 12(4): e0174783. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0174783>

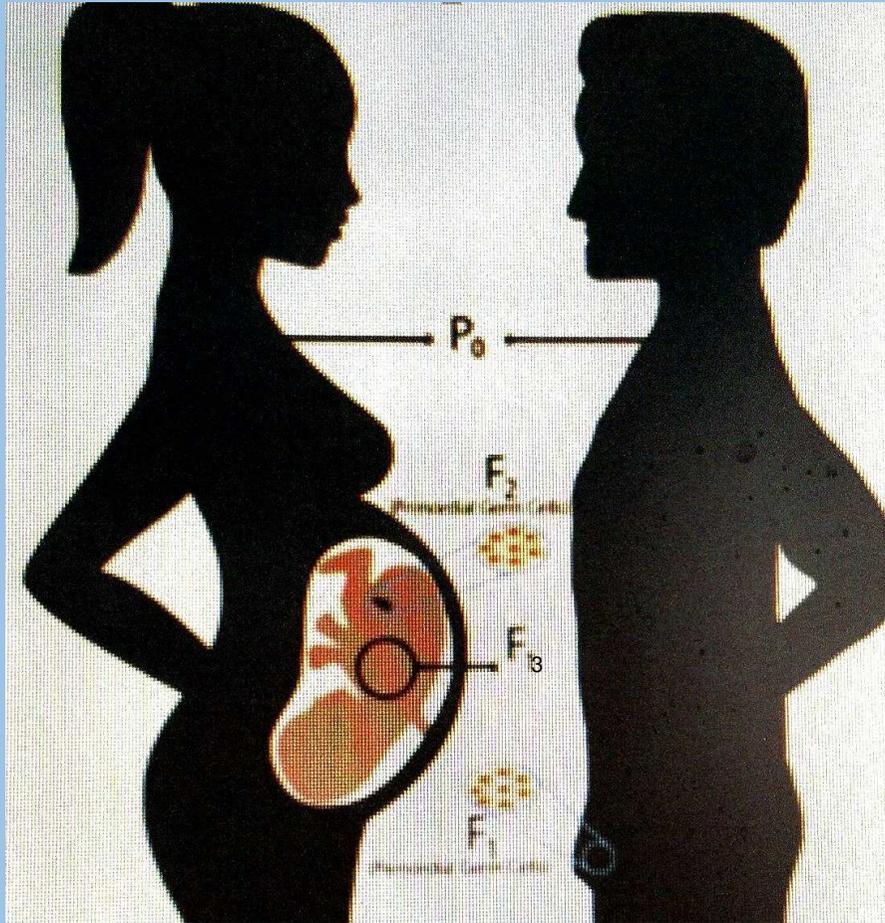
**Quenneville S et al. In embryonic stem cells, ZFP57/KAP1 recognize a methylated hexanucleotide to affect chromatin and DNA methylation of imprinting control regions. Mol Cell. 2011 Nov 4; 44(3):361–72. <https://doi.org/10.1016/j.molcel.2011.08.032> PMID: 22055183

**Mittaz L et al. Adamts-1 is essential for the development and function of the urogenital system. Biol Reprod. 2004 Apr; 70(4):1096–105. <https://doi.org/10.1095/biolreprod.103.023911> PMID: 14668204

**** Lemarchant S et al. ADAMTS proteoglycanases in the physiological and pathological central nervous system. J Neuroinflammation. 2013; 10:133. <https://doi.org/10.1186/1742-2094-10-133> PMID: 24176075 HHORAGES

*****Zhang C et al. High-resolution melting analysis of ADAMTS9 methylation levels in gastric, colorectal, and pancreatic cancers. Cancer Genet Cytogenet. 2010 Jan 1; 196(1):38–44. <https://doi.org/10.1016/j.cancergencyto.2009.08.016> PMID: 19963134 37

Effet transgénérationnel du DES



Effet trans-générationnel ou transmission du défaut épigénétique aux générations futures.

Cette figure* schématise **l'héritage trans-générationnel sur 3 générations**. Une femme enceinte et un père ou P_0 (1^{ère} génération) portent des informations épigénétiques au moins jusqu'à la 3^{ème} génération (F_2). Le fœtus (2^{ème} génération = F_1) et ses cellules germinales de 3^{ème} génération (F_2) peuvent également être affectées par l'exposition aux PE environnementaux.

On a pu observer la transmission épigénétique de cancer provoquée expérimentalement par le DES chez la souris gestante **jusqu'à 8 générations** ...**

*M. SHAHIDEHNIA. Epigenetic Effects of Endocrine Disrupting Chemicals. *Journal of Environmental & Analytical Toxicology*, 2016, 6 (4), 1-31. doi:10.4172/2161-0525.1000381

**WALKER, BE & HAVEN, MI. Intensity of multigenerational carcinogenesis from diethylstilbestrol in mice. *Carcinogenesis*, 1997, 18, 791-793.

Une démonstration de l'effet transgénérationnel du DES à partir de la cohorte de Hhorages:

Kalfa, N., Paris, F., Soyer-Gobillard, M.O., Daures, J.P., Sultan, Ch. (2011). Incidence of hypospadias in grandsons of DES-exposed women during pregnancy: a multigenerational national cohort study. *Fertility and Sterility* 95 (8): 2574-2577.

Prevalence of hypospadias in grandsons of women exposed to diethylstilbestrol during pregnancy: a multigenerational national cohort study

Prenatal diethylstilbestrol (DES)-exposed mice have raised the suspicion of a transgenerational effect in the occurrence of genital malformation in males. This nationwide cohort study in collaboration with a French association of DES-exposed women studied 529 families and showed that a significant proportion of boys born to DES daughters exhibited hypospadias with no other molecular defects identified. (*Fertil Steril*® 2011;95:2574-7. ©2011 by American Society for Reproductive Medicine.)

Key Words: Hypospadias, DES, diethylstilbestrol, estrogens, prevalence, environment, epigenetic

Although the role of fetal androgens is crucial to male genital development during the first trimester of pregnancy, defects in the synthesis or molecular action of testosterone are rare in isolated hypospadias (1). Hypospadias may be a multifactorial defect arising from genetic, hormonal, and environmental factors (2-4). It has been hypothesized that changes in androgen/estrogen balance due to endogenous or exogenous hormonal factors

during the critical period of penile and urethral development contribute to this malformation (5, 6).

Men who were exposed in utero to diethylstilbestrol (DES) a synthetic estrogen, may exemplify the effects of environmental chemicals with endocrine-disrupting activity on genital development (7). DES was prescribed for pregnant women from the late 1930s to the 1970s in the mistaken belief that it would prevent miscarriage or premature birth. Unfortunately, DES was found to be not only ineffective but also harmful. Daughters born from DES-related pregnancies often show abnormalities in their Müllerian structures and have elevated risks of peripubertal vaginal and cervical clear-cell adenocarcinoma, fertility problems, ectopic pregnancies, miscarriages, and premature births (8). The risk of reproductive tract abnormalities also appears to be increased for DES sons, who may present hypoplastic testis, epididymal cysts, cryptorchidism, or hypospadias (9).

After several studies in animals (10-12), a question emerged as to whether the harmful effects of DES can be "transmitted" to subsequent generations. Newbold and colleagues (10, 11) reported an increased incidence of reproductive tract tumors in male and female descendants of mice developmentally exposed to DES. In the human, Klip et al. (13) reported an increased risk of hypospadias in sons of DES daughters in a cohort of women diagnosed with fertility problems. Other studies either confirm (14, 15) or question (16) these results. However, the direct implication of DES in the occurrence of hypospadias remains debatable since many other uncontrolled factors, especially environmental and genetic, are implicated in this malformation (3). We studied the prevalence of hypospadias in the grandsons of DES-treated and -untreated women and ruled out other environmental and genetic factors that could have been associated with this malformation in these patients.

A nationwide cohort study was conducted in collaboration with a French association of DES-treated women (HHORAGES Association). The reason the women joined this association was not the presence of hypospadias in the second or third generation but rather psychological disturbances, vaginal and cervical clear-cell

Nicolas Kalfa, M.D., Ph.D.^{a,b,c}
Françoise Paris, M.D.^{a,b}
Marie-Odile Soyer-Gobillard, Ph.D.^d
Jean-Pierre Daures, M.D., Ph.D.^c
Charles Sultan, M.D., Ph.D.^{a,b}

^a Unité d'Endocrinologie-Gynécologie Pédiatrique, Service de Pédiatrie I, Hôpital Arnaud de Villeneuve, CHU Montpellier and Université Montpellier, France

^b Service d'Hormonologie (Développement et Reproduction), Hôpital Lapeyronie, CHU Montpellier and Université Montpellier, France

^c Service de Chirurgie et Urologie Pédiatrique, Hôpital Lapeyronie, CHU Montpellier and Université Montpellier, France

^d Centre National de la Recherche Scientifique, Unité Mixte de Recherche 7628, Université Paris VI et Association Hhorages-France, Drancy, France

^e Département de Biostatistiques, Institut de Recherche Clinique, Université de Montpellier, France

Received October 14, 2010; revised February 21, 2011; accepted February 23, 2011; published online April 2, 2011.

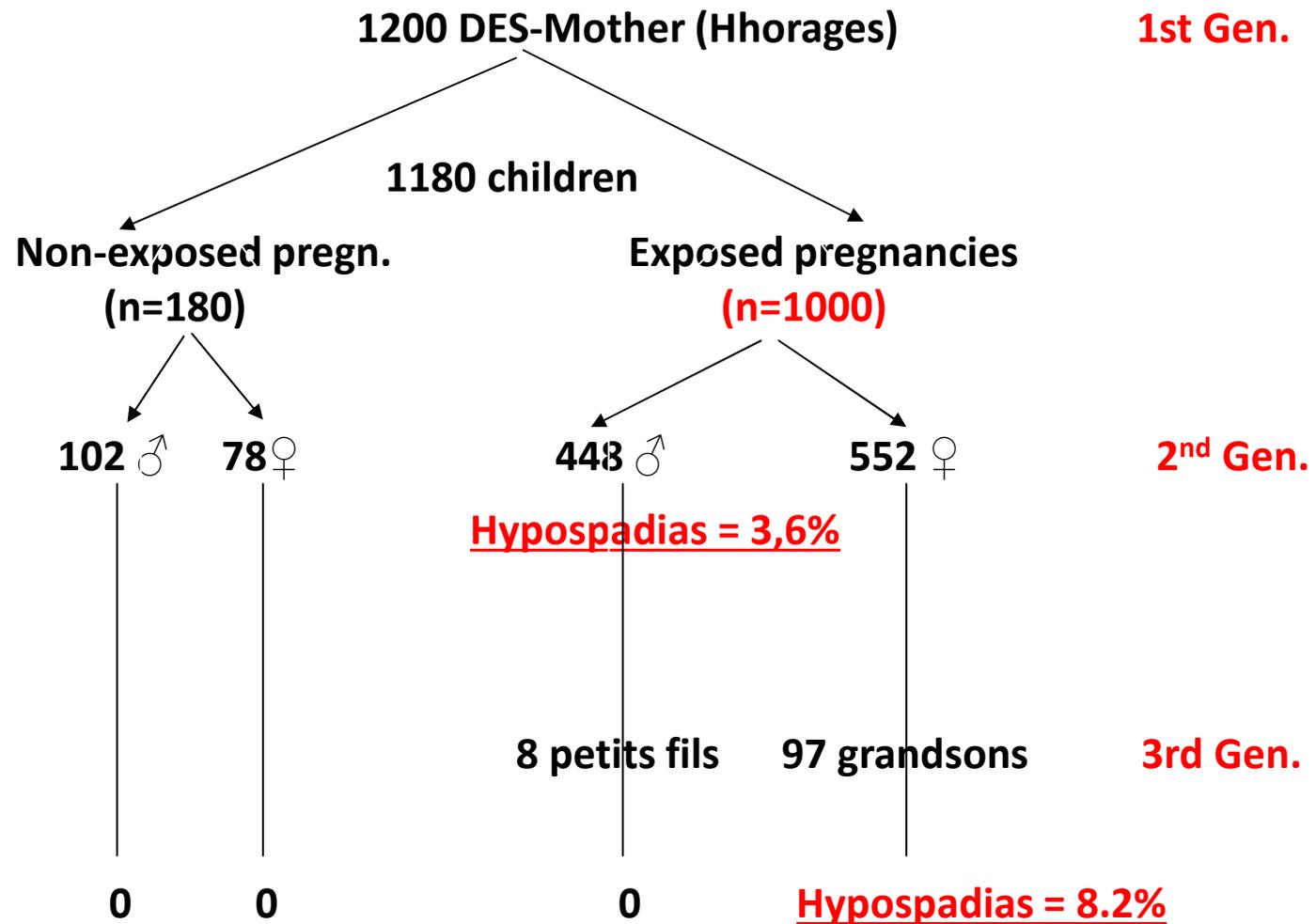
N.K. has nothing to disclose. F.P. has nothing to disclose. M.-O.S.-G. has nothing to disclose. J.-P.D. has nothing to disclose. C.S. has nothing to disclose.

The first two authors contributed equally to this article.

This study was supported by University grant no. PHRC UF8270.

Reprint requests: Charles Sultan, M.D., Ph.D., Unité d'Endocrinologie-Gynécologie Pédiatriques, Service de Pédiatrie I, Hôpital Arnaud de Villeneuve, CHU Montpellier, 34295 Montpellier, France (E-mail: c-sultan@chu-montpellier.fr).

Trans-Generational effect and Hypospadias on grandsons



N.Kalfa, F. Paris, MO.Soyer-Gobillard, JP.Daures,Ch.Sultan. High incidence of hypospadias in grand-sons of women exposed to DES during pregnancy: a nationwide multigenerational study. *Fertility Sterility*, 2011, 95 (8), 2574-2577.

Effet des progestatifs de synthèse ou Progestins

Nous nous sommes également intéressés à l'étude des effets de la progestérone synthétique sur le développement du cerveau des enfants exposés in utero de notre cohorte. **A ce jour, il n'y avait pas encore eu de recherche publiée concernant ces effets sur les enfants exposés in utero.**

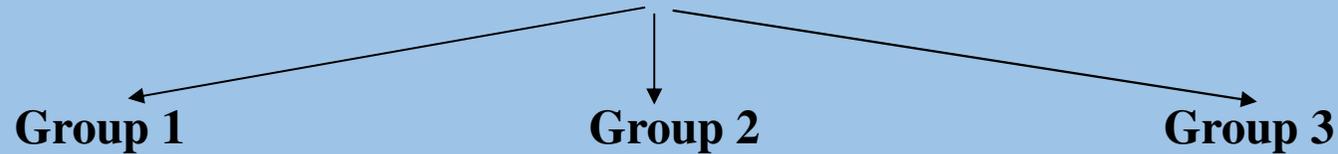
La progestérone naturelle permet notamment d'aménager l'endomètre (la partie intérieure de l'utérus) pour l'implantation de l'œuf fécondé et agit sur la survenue des règles à la fin de chaque cycle menstruel. Cette hormone joue également un rôle important pendant la grossesse.

Nos observations ont été recueillies auprès de la cohorte de Hhorages sur 1934 enfants en utilisant toujours le même questionnaire détaillé et complet. Comme nous l'avons déjà montré, la plupart des familles de notre cohorte avaient des enfants exposés à des oestrogènes seuls ou à des cocktails estro-progestatifs, mais seulement **46 familles (115 enfants) avaient au moins un enfant exposé à un ou plusieurs progestatifs prescrits seuls et représentant 62 enfants exposés *in utero*; 35 enfants ont été exposés après une grossesse antérieure traitée.**

**Ce travail a fait l'objet d'une publication parue récemment: Marie-Odile Soyer-Gobillard, Laura Gaspari , Philippe Courtet, Mauricette Puillandre, Françoise Paris and Charles Sultan . Neurodevelopmental disorders in children exposed *in utero* to synthetic progestins: Analysis from the national cohort of the Hhorages Association*. *Gynecological Endocrinology* (2019) <https://doi.org/10.1080/09513590.2018.1512968>*

Classification of the three groups of the Hhorages children born from 46 families which at least one child per family has been exposed *in utero* to progestin(s).

46 Mothers : 115 children



First born unexposed

Exposed to synthetic progestin

Post exposed

N=18

N=62

N=35

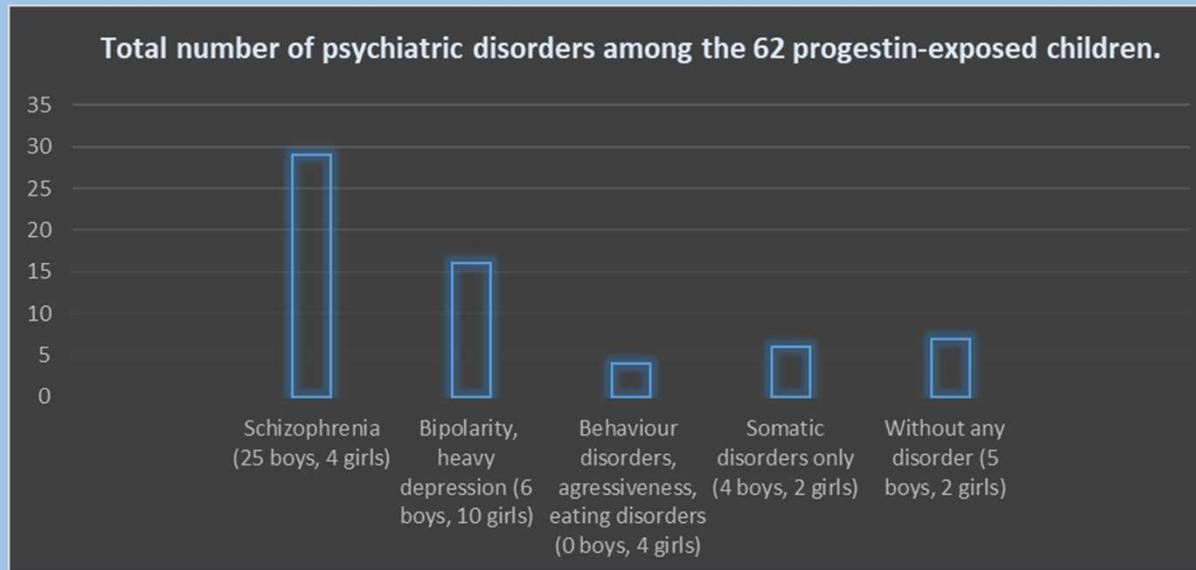
0 disorder

49 psy disorders (79,03%)

1 psy disorder

6 somatic disorders (9,67%)

7 without disorder (11,29%)



A- Graphic representation of whole psychiatric disorders of in utero progestin-exposed children (Hhorages data).

Schizophrenia (25 boys, 4 girls)	29
Bipolar disorders, severe depression (6 boys, 10 girls)	16
Behavior disorders, aggressiveness, eating disorders (0 boys, 4 girls)	4
Somatic disorders only (4 boys, 2 girls)	6
With no disorder (5 boys, 2 girls)	7
Total number of exposed children	62

B- Psychiatric disorders affecting the progestin in utero exposed children

Neurodevelopmental disorders in children exposed *in utero* to synthetic progestins: analysis from the national cohort of the Hhorages Association*

Marie-Odile Soyer-Gobillard^{a,b}, Laura Gaspari^c, Philippe Courtet^d, Mauricette Puillandre^b, Françoise Paris^c and Charles Sultan^c

^aCentre National de la Recherche Scientifique, Sorbonne University, Université P. et M. Curie (Paris 6), France; ^bAssociation HHORAGES-France (Halte aux HORMones Artificielles pour les Grossesses), Asnières sur Oise, France; ^cService de Pédiatrie I, Unité d'endocrinologie et gynécologie pédiatrique, Université de Montpellier, France; ^dDépartement d'urgence et Post urgence Psychiatrique, CHU Montpellier and Université de Montpellier, Montpellier, France

ABSTRACT

The medical and scientific communities have not yet fully acknowledged the undesirable effects of the synthetic hormones that have been administered to pregnant women for decades. The somatic effects of *in utero* exposure to diethylstilbestrol (DES), such as genital malformations, infertility, and cancer, have long been recognized but this has not been the case concerning psychiatric disorders. The progestins used in contraception and hormone replacement therapy are known to affect the adult brain, but no data exist on their effects due to *in utero* exposure of children. The Hhorages Association, a national patient support group, has assembled a cohort of 1200 women who took synthetic hormones during pregnancy. These women had a combined 1934 children. We obtained full questionnaire responses from 46 women treated with progestins only – and not an estrogenic cocktail – who gave birth to 115 children. Three groups were observed: Group 1 ($n=18$): firstborn unexposed children, Group 2 ($n=62$): children exposed *in utero* to synthetic progestins, and Group 3 ($n=35$): children born after a previous pregnancy treated with progestins. No psychiatric disorders were reported in Group 1 and the incidence of psychiatric disorders was drastically elevated in Group 2. Our work shows a striking increase in psychiatric disorders among children exposed *in utero* to progestins and strongly suggests that prenatal exposure is associated with a high risk of psychiatric disorders in adolescence and adulthood, whether accompanied or not by disorders of sex development.

ARTICLE HISTORY

Received 11 July 2018
Accepted 13 August 2018
Published online 10 January 2019

KEYWORDS

Adolescence; adulthood; prenatal progestin exposure; psychiatric disorders

Introduction

Neuroactive steroids like progesterone play an important role in shaping the CNS structure and function (neurodevelopment, neurogenesis, and cognition) throughout the lifespan. Progesterone exerts powerful effects on the brain, such as regulation of neurogenesis and astroglial and synaptic plasticity. Moreover, it regulates the development of neuronal types like Purkinje cells and oligodendrocytes, as well as the myelination process. Progesterone exerts a significant influence on the activity of several neurotransmitters involved in the pathophysiology of psychosis, including the dopaminergic, glutamatergic and GABAergic systems. In addition to progesterone itself, it can be converted to dehydroprogesterone and then allopregnanolone (or iso-pregnanolone) [1], potent ligands of the GABA-A receptor. Progesterone elicits its effects by gene transcription, mediated by nuclear progesterone receptors, as well as by non-genomic mechanisms through the activation of a signal transduction pathway. Preclinical studies have provided hints that neurosteroids might be involved in the pathophysiology of psychosis.

Severe psychiatric disorders were recently documented in children exposed *in utero* to synthetic estrogens like diethylstilbestrol (Distilbene[®], DES) and ethinyl estradiol (EE) [2–4]. The actions

of these estrogens involve epigenetic mechanisms [5] and especially differential specific methylations, which were found on the genes ZFP57 and ADAMTS9 in young psychotic patients exposed *in utero* to DES [6]. In this recent work, the authors suggested that in exposed individuals, ZFP57 gene methylation may be associated with psychosis. The ADAMTS9 gene is implicated in the control of organ shape, especially the development and function of the uterus and reproductive organs [7], which are often abnormal after *in utero* DES exposure, as well as in the control of CNS development [8] and several kinds of cancer [9].

Synthetic progestins, widely used for contraception or hormonal replacement therapy, are known to impact the adult brain [10–11], but no data exist on the postnatal effects after *in utero* exposure. The aim of this work was to determine whether prenatal exposure to synthetic progestins is a risk factor for psychiatric disorders in adolescence or adulthood.

Material and methods

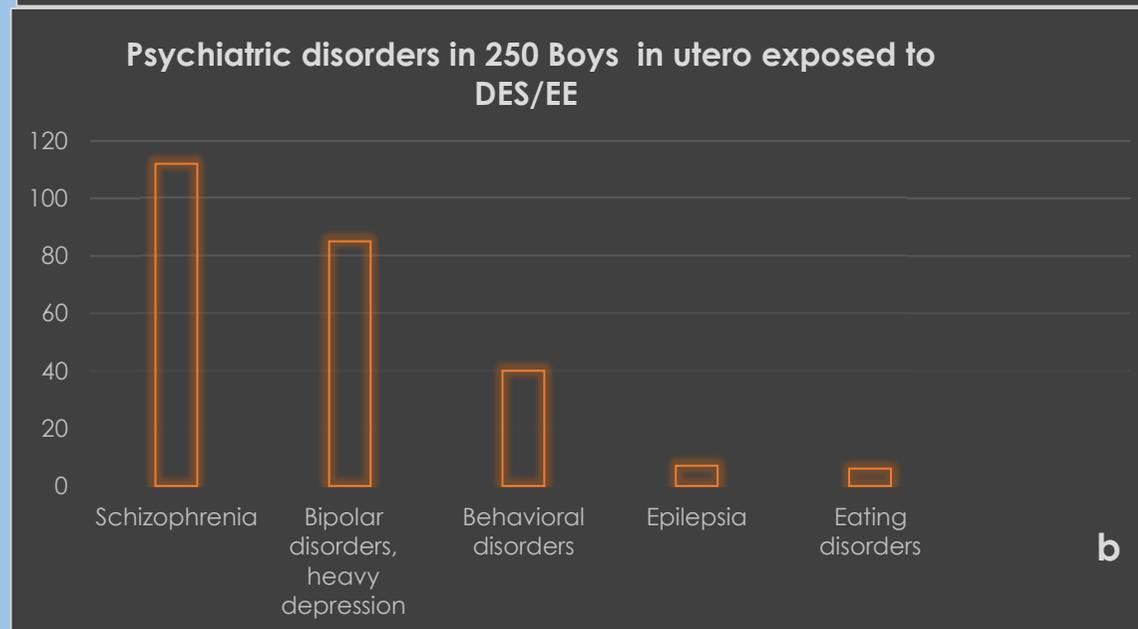
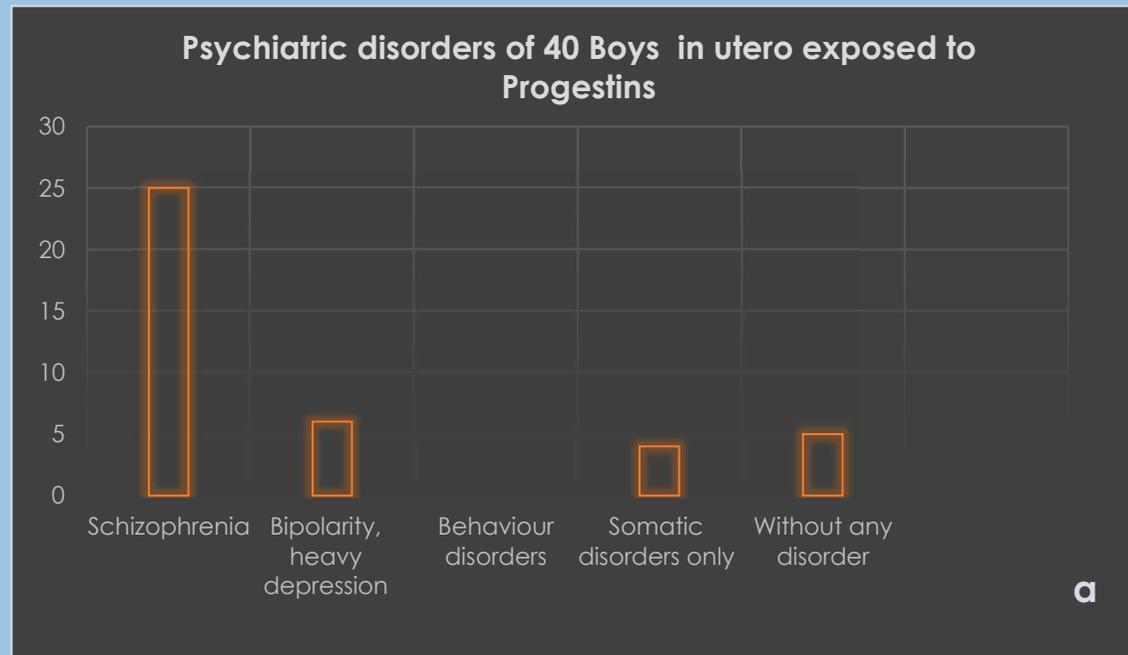
Our clinical data were collected from 1200 families (1934 children) involved in the French Hhorages Association (Halt to

CONTACT Marie Odile Soyer-Gobillard  mog66@orange.fr  Centre National de la Recherche Scientifique, Université Paris 6 and Association HHORAGES-France, 95270 Asnières sur Oise, France, Asnières sur Oise 95270, France

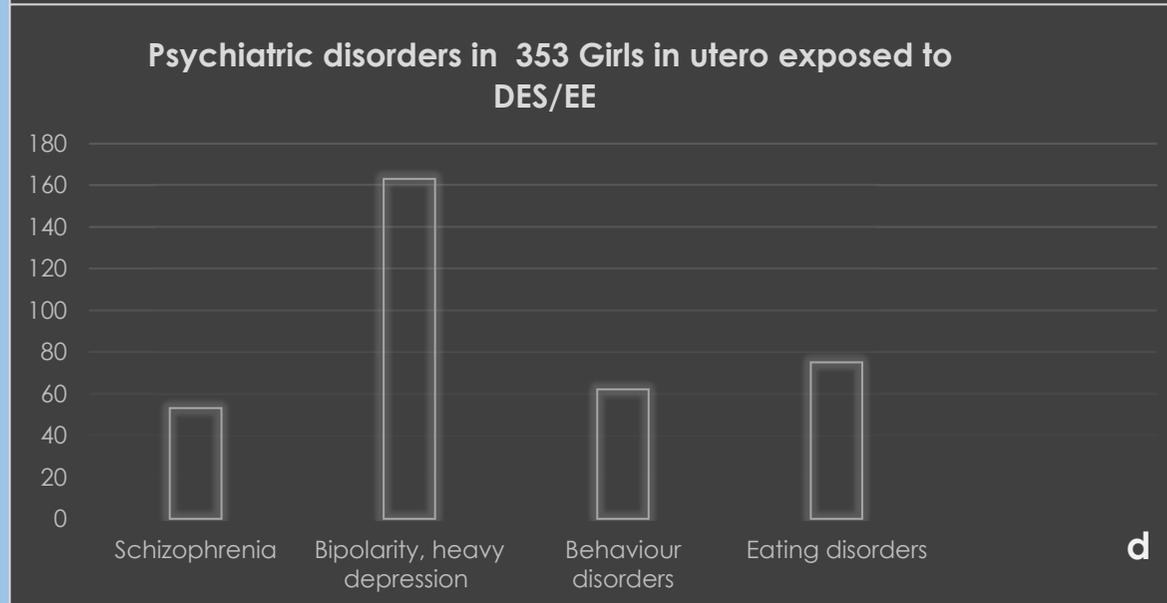
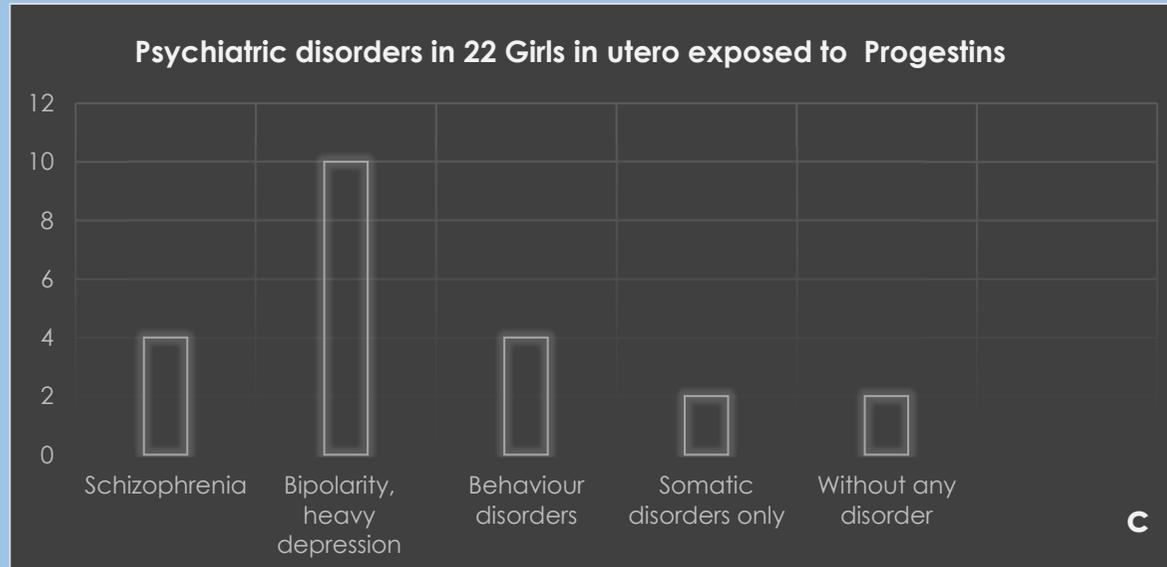
*Association Registered on the Epidemiological Portal of French Health Databases INSERM (French National Institute for Medical Research) and AVIESAN (National Alliance for Life Sciences and Health) (epidemiologie-france.aviesan.fr).

This work was presented as an oral communication during the European Congress of Gynaecology, Barcelona, 2017.

© 2019 Informa UK Limited, trading as Taylor & Francis Group



Comparative diagrams representing psychiatric disorder cases presented, respectively, by boys exposed either to DES/EE (b), or to Progestins (a). Hhorages data.



Comparative diagrams representing psychiatric disorder cases presented, respectively, by girls exposed either to DES/EE (d) or to Progestins ©. Hhorages data.

***Invitée par Academic Press/Elsevier à écrire un chapitre
sur l'effet des Progestins
pour un ouvrage « Factors affecting Neurodevelopment ».....***

RESEARCH

Open Access



Prenatal levonorgestrel exposure induces autism-like behavior in offspring through ER β suppression in the amygdala

Yuanlin Zou^{1,2†}, Qiaomei Lu^{1,2†}, Dan Zheng^{3†}, Zhigang Chu⁴, Zhaoyu Liu^{1,2}, Haijia Chen⁵, Qiongfang Ruan⁴, Xiaohu Ge⁵, Ziyun Zhang^{1,2}, Xiaoyan Wang⁵, Wenting Lou⁴, Yongjian Huang², Yifei Wang⁵, Xiaodong Huang⁴, Zhengxiang Liu^{1,2}, Weiguo Xie^{6*}, Yikai Zhou^{3*} and Paul Yao^{1,2*}

Abstract

Background: Autism spectrum disorder (ASD) is characterized by impairments in social communication and restricted or repetitive behaviors or interests. ASD is now diagnosed in more than one out of 100 children and is biased towards males by a ratio of at least 4:1. Many possible explanations and potential causative factors have been reported, such as genetics, sex, and environmental factors, although the detailed mechanisms of ASD remain unclear.

Methods: The dams were exposed through oral contraceptives to either vehicle control (VEH) alone, levonorgestrel (LNG) alone, ethinyl estradiol (EE) alone, or a combination of LNG/EE for 21 days during their pregnancy. The subsequent 10-week-old offspring were used for autism-like behavior testing, and the limbic tissues were isolated for analysis. In another experimental group, 8-week-old male offspring were treated by infusion of ER β overexpression/knockdown lentivirus in the amygdala, and the offspring were analyzed after 2 weeks.

Results: We show that prenatal exposure of either LNG alone or a LNG/EE combination, but not EE alone, results in suppression of ER β (estrogen receptor β) and its target genes in the amygdala with autism-like behavior in male offspring, while there is a much smaller effect on female offspring. However, we find that there is no effect on the hippocampus and hypothalamus. Further investigation shows that ER β suppression is due to LNG-mediated altered methylation on the ER β promoter and results in tissue damage with oxidative stress and the dysfunction of mitochondria and fatty acid metabolism, which subsequently triggers autism-like behavior. Overexpression of ER β in the amygdala completely restores LNG-induced ER β suppression and autism-like behaviors in offspring, while ER β knockdown mimics this effect, indicating that ER β expression in the amygdala plays an important role in autism-like behavior development.

Conclusions: We conclude that prenatal levonorgestrel exposure induces autism-like behavior in offspring through ER β suppression in the amygdala. To our knowledge, this is the first time the potential effect of oral contraceptives on the contribution of autism-like behavior in offspring has been discovered.

Keywords: Amygdala, Autism-like behavior, Estrogen receptor β , Oral contraceptives, Oxidative stress

* Correspondence: wgxie@hotmail.com; zhouyk@mails.jmu.edu.cn; yaopl112@yahoo.com

[†]Equal contributors

¹Institute of Burns, Jorgien Hospital of Wuhan University, Wuhan 430060, People's Republic of China
²Institute of Environmental Medicine, Tongji Medical College, Huazhong University of Science and Technology, Wuhan 430030, People's Republic of China

³Internal Medicine of Tongji Hospital, Tongji Medical College, Huazhong University of Science and Technology, Wuhan 430030, People's Republic of China

Full list of author information is available at the end of the article



© The Author(s). 2017 **Open Access** This article is distributed under the terms of the Creative Commons Attribution 4.0 International License (<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>), which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided you give appropriate credit to the original author(s) and the source, provide a link to the Creative Commons license, and indicate if changes were made. The Creative Commons Public Domain Dedication waiver (<http://creativecommons.org/publicdomain/zero/1.0/>) applies to the data made available in this article, unless otherwise stated.

Cohorte Chinoise

Type d'étude: Animale (rat).

**Localisation: CHINA, Ville de WUHAN (9,8 Millions Habit, SE Chine):
Tongren Hospital, Wuhan Univ.)**

Population: Mères rates prégnantes (gestation: 20 / 24j)

**Expérimentation: Exposition Prénatale au Levonorgestrel (LNG)
(Progestin synthétique) avec ou sans EE, ou EE seul: 21Jours de
grossesse**

**Pathologies des ratons: comportement autism-like: observations des
ratons de 10 semaines.**

**Analyses après dissection de l'aire limbique du cerveau et recherche par
sondes moléculaires**

Résultats: -Pas d'effets sur l'Hippocampus ou l'Hypothalamus

**-Altération (hyperméthylation) du Promoteur du Gene Erβ
(récepteur nucléaire aux estrogènes) dans la zone de l'Amygdale.**

Zou et al., *Molecular Autism* (2017), 8, 46,



Prenatal Progesterin Exposure Is Associated With Autism Spectrum Disorders

Ling Li^{1†}, Min Li^{2†}, Jianping Lu^{3†}, Xiaohu Ge⁴, Weiguo Xie⁵, Zichen Wang⁶, Xiaoling Li¹, Chao Li¹, Xiaoyan Wang⁷, Yan Han¹, Yifei Wang¹, Liyan Zhong¹, Wei Xiang¹, Xiaodong Huang^{2*}, Haijia Chen^{4*} and Paul Yao^{1,2,3*}

¹ Department of Pediatrics, Hainan Maternal and Child Health Hospital, Haikou, China, ² Institute of Rehabilitation Center, Tongren Hospital of Wuzhen University, Wuzhen, China, ³ Department of Child Psychiatry, Kangning Hospital of Shenzhen, Shenzhen, China, ⁴ SALIAI Stem Cell Institute of Guangdong, Guangzhou SALIAI Stem Cell Science and Technology Co. LTD., Guangzhou, China

We have previously reported that prenatal progesterin exposure induces autism-like behavior in offspring through ER β (estrogen receptor β) suppression in the brain, indicating that progesterin may induce autism spectrum disorders (ASD). In this study, we aim to investigate whether prenatal progesterin exposure is associated with ASD. A population-based case-control epidemiology study was conducted in Hainan province of China. The ASD children were first screened with the Autism Behavior Checklist (ABC) questionnaire, and then diagnosed by clinical professionals using the ASD diagnosis criteria found in the Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders, Fifth Edition (DSM-V). Eventually, 235 cases were identified as ASD from 37863 children aged 0–6 years old, and 682 matched control subjects with typically developing children were selected for the analysis of potential impact factors on ASD prevalence using multivariate logistic regression. Our data show that the ASD prevalence rate in Hainan was 0.62% with a boy:girl ratio of 5.4:1. Interestingly, we found that the following factors were strongly associated with ASD prevalence: use of progesterin to prevent threatened abortion, use of progesterin contraceptives at the time of conception, and prenatal consumption of progesterin-contaminated seafood during the first trimester of pregnancy. All the above factors were directly or indirectly involved with prenatal progesterin exposure. Additionally, we conducted *in vivo* experiments in rats to further confirm our findings. Either endogenous (progesterone) or synthetic progesterin (norethindrone)-treated seafood zebratish were used to feed pregnant dams, and the subsequent offspring showed autism-like behavior, which further demonstrated that prenatal progesterin exposure may induce ASD. We conclude that prenatal progesterin exposure may be associated with ASD development.

Keywords: Autism spectrum disorders, estrogen receptor β , prenatal exposure, progesterin, rat, Zebratish

INTRODUCTION

Autism spectrum disorders (ASD) is a neurodevelopmental disorder characterized by deficits in social interaction and communication in addition to repetitive and stereotyped behaviors (1). Epidemiological studies have revealed a worldwide rising trend in ASD prevalence in the past decades, with the most recent reported ratio of 1:68 (2, 3). ASD has become the most common

OPEN ACCESS

Edited by:

Benjamin K. Yee,
Hong Kong Polytechnic University,
Hong Kong

Reviewed by:

Urs Meyer,
ETH Zurich, Switzerland
Jonas Hauser,
Neelgé Research Center, Switzerland

*Correspondence:

Xiaodong Huang
13686190546@139.com
Haijia Chen
chenh@saliai.com
Paul Yao
yao112@ahoo.com

[†]These authors have contributed
equally to this work

Specialty section:

This article was submitted to
Molecular Psychiatry,
a section of the journal
Frontiers in Psychiatry

Received: 23 April 2018

Accepted: 30 October 2018

Published: 19 November 2018

Citation:

Li L, Li M, Lu J, Ge X, Xie W, Wang Z,
Li X, Li C, Wang X, Han Y, Wang Y,
Zhong L, Xiang W, Huang X, Chen H
and Yao P (2018) Prenatal Progesterin
Exposure Is Associated With Autism
Spectrum Disorders.
Front. Psychiatry 9:611.
doi: 10.3389/fpsyf.2018.00611

Impact factors	No. of cases (n = 235)	No. of controls (n = 682)	Statistic (χ^2 value)	P value
Family History of Mental Diseases	23	56	0.551 (df = 1)	0.458
Preterm birth (<37 weeks)	25	57	1.1161 (df = 1)	0.291
Birth Asphyxia	34	74	2.2011 (df = 1)	0.138
Paternal Age			0.8841 (df = 2)	0.643
<20 years	12	36		
21-34 years	184	550		
>34 years	39	96		
Maternal Age (year)			10.8691 (df = 2)	0.004*
<20 years	21	47		
21-34 years	145	498		
>34 years	69	137		
Paternal Personality			0.4021 (df = 2)	0.818
Extroverted	30	79		
Middle	150	450		
Introverted	55	153		
Maternal Personality			0.3061 (df = 2)	0.858
Extroverted	39	110		
Middle	145	412		
Introverted	51	160		
Major Stressful Life Event #	26	56	1.7471 (df = 1)	0.186
Paternal Smoking and Areca Chewing History	112	281	2.9761 (df = 1)	0.085
Maternal Abortion History	51	121	1.7991 (df = 1)	0.180
Use of Progesterin to Prevent Threatened Abortion #	36	51	12.5141 (df = 1)	0.000*
Use of Progesterin Contraceptives at the Time of Conception	26	41	6.5871 (df = 1)	0.010*
Prenatal Consumption of Progesterin-Contaminated Seafood (g/week)			38.7781 (df = 2)	0.000*
100-400	69	359		
400-800	92	191		
800-1,200	74	132		

*, indicates significant difference; #, during the first trimester of pregnancy; df, degrees of freedom.



1. **Type d'étude: Epidémiologique.**
2. **Localisation: CHINA, Ile de HAINAN (8,7 Millions habit)**
3. **Population analysée : 37,863 enfants**
4. **Pathologie : 235 enfants avec autisme (determination selon le DSM-V, Manuel de Diagnostics et Statistics des Troubles Mentaux, 5th ed.)**
5. **Les antécédents découverts - *In utero exposition avec Progestin* prescrite pour éviter des Fausses couches (36/235:15,3%);**
 - ***Conception et début de grossesse sous pilule contraceptive avec Progestins* (26/235: 11,6%);**
 - **Mères ayant consommé des *seafoods contaminées avec des Progestins* (100%).**
6. **Controle animal: Mères rates nourries avec seafoods contaminées avec Progestins: comportement "autism-like" des ratons.**

Li, L. et al, *Frontiers in Psychiatry*, 2018,

Prenatal exposure to progestins: impact on neurodevelopment of the child.

M.-O. Soyer-Gobillard [1], Laura Gaspari, Paul Yao and Charles Sultan

Chapter in press (2020):

*In Book : « **Factors affecting Neurodevelopment** »*

Editors : Colin MARTIN, Victor R. PREEDY & Rajkumar RAJENDRAM

Academic Press London, Elsevier Inc.

**Un Article est paru récemment en ligne sur ce sujet , en français, publié par la
Revue Médicale Pratiques (12-2019):**

<https://pratiques.fr/Dangers-pour-les-enfants-exposes-in-utero-aux-progestatifs-de-synthese>

Des travaux très récents (2015, 2019):

Une Cohorte Danoise étudiée au Royaume Uni par l'équipe de Baron-Cohen

Une analyse physicochimique du fluide amniotique conservé chez des mères d'une cohorte Danoise de 128 enfants mâles ASD (chromatographie en phase liquide couplée à une spectrométrie de masse) par l'équipe du Pfr Baron-Cohen et al. en 2015*, a permis de mesurer les concentrations en hormones sexuelles stéroïdes, montrant une concentration élevée (en progestins) dans les cas d'autisme.

Plus tard (2019) les mêmes auteurs ayant repris l'analyse des mêmes fluides, même cohorte et mêmes méthodes, ont mesuré les taux en estrogènes, ont montré que le taux en estrogènes dans les fluides d'enfants ayant développé un autisme étaient particulièrement élevé.**

Cette étude montre qu'un excès prénatal d'oestrogènes contribue au développement autistique plus encore que d'autres hormones stéroïdes telles que les progestins.

*Baron-Cohen, S., Auyeung, B., Nørgaard-Pedersen, B., Hougaard, D. M., Abdallah, M. W., Cohen, A. et al. (2015). Elevated fetal steroidogenic activity in autism. *Molecular Psychiatry*, 20, 369-376.

**Baron-Cohen, S., Tsompanidis, A., Auyeung, B., Nørgaard-Pedersen, B., Hougaard, D. M., Abdallah, M. et al. (2019). Foetal oestrogens and autism. *Molecular Psychiatry*, <https://doi.org/10.1038/s41380-019-0454-9>, 9pp.

Dans une autre étude danoise sur plus d'un million de femmes utilisatrices de COC (Contraceptifs oraux combinés) ou porteuses d'un DIU ou d'un anneau vaginal (oestro-progestatifs), les auteurs (Sovlund et al. 2016) ont conclu que l'utilisation d'une contraception hormonale était associée à la consommation d'antidépresseurs et au diagnostic de dépression, en particulier chez les adolescents qui ont commencé tôt la prise de pilule.

Ce résultat a été confirmé par Anderl & Chen (2019) après l'analyse de 1236 femmes dans le National Health and Nutrition Examination Survey aux États-Unis. Ils ont montré une association à long terme entre l'utilisation de COC chez les adolescents et le risque de dépression à l'âge adulte, même des années après la première exposition.

Enfin, le lien, entre le recours à la contraception orale et la prévalence des troubles du spectre autistique (TSA), qui atteint des proportions épidémiques, particulièrement aux États-Unis comme en Chine a été très fortement suspecté par Strifert (2014, 2015) et démontrés récemment par l'étude chinoise du Pfr Yao.

[Skovlund, C. W.](#), [Mørch, L. S.](#), [Kessing, L. V.](#) & [Lidegaard, Ø.](#) (2016). Association of Hormonal Contraception With Depression. *JAMA Psychiatry*, 73(11), 1154-1162. <http://doi: 10.1001/jamapsychiatry.2016.2387>.

[Anderl, C.](#), [Li, G.](#) & [Chen, F. S.](#) (2019). Oral contraceptive use in adolescence predicts lasting vulnerability to depression in adulthood. *The Journal of Psychology and Psychiatry*, 60 (9). <https://doi.org/10.1111/jcpp.13115>.

Strifert, K. (2014). The link between oral contraceptive use and prevalence in autism spectrum disorder. *Medicine Hypotheses*, 83, 718-725.

Strifert, K. (2015). An epigenetic basis for autism spectrum disorder risk and oral contraceptive use. *Medicine Hypotheses*, 85, 1006–1011.

PRINCIPE DE PRECAUTION

Rappel: Ethinyl estradiol (EE) et Progestatifs de synthèse (Progestins) sont les composants majeurs de très nombreuses spécialités de pilules contraceptives.

Principe de précaution: Ces hormones synthétiques restent donc fixées au niveau des lipides chez la mère ou chez la jeune femme (effet de rémanence) et seront relâchées dans l'organisme maternel puis le fœtus, via le placenta, lors d'une grossesse ultérieure. L'EE n'a été considéré comme dangereux et interdit aux femmes enceintes qu'à partir de 1980! Et aucune étude n'existe sur la démonstration de la dangerosité des Progestins. Leurs effets sont comparables à ceux du DES pour les enfants exposés lors de grossesses ou si le temps de latence (plus de 2 ans) n'a pas été respecté.

En raison de la toxicité démontrée chez l'animal et chez l'homme, il faut privilégier les pilules contraceptives **à base d'hormones naturelles** (rarissimes) ou arrêter la prise de pilule très longtemps (2 à 3 ans) avant la prévision d'une grossesse, ou **privilégier le stérilet au cuivre..**

DERNIERS DÉGATS: CEUX DE L'ANDROCUR OU ACÉTATE DE CYPROTÉRONNE (dérivé de la 17-alpha-hydroxyprogestérone)

Ce progestatif de synthèse a été largement prescrit pour traiter :

- l'hirsutisme majeur chez la femme,**
- comme contraceptif, associé à l'Ethinylestradiol (Estrogène synthétique),**
- pour traiter l'acné,**
- dans le cas du syndrome des ovaires polykystiques (SOPK),**
- comme anti androgène dans le cas de cancer de la prostate (il a remplacé de DES!),**
- pour traiter certaines paraphilies.**

Ce progestatif multiplie les risques de tumeurs méningées (méningiomes) en particulier au niveau du cerveau et de la moelle épinière.

Les risques de ces pathologies ont été signalés depuis 2009 mais le produit est toujours prescrit avec des modifications thérapeutiques. Au fil des années, le nombre de cas a augmenté en France (plus de 500 opérations cérébrales et les patients s'organisent au plan judiciaire). C'est seulement tout récemment, en 2019 (!...) que l'ANSM a lancé un avertissement aux prescripteurs à la suite d'une étude très poussée, finalisée en juin 2019 par la CNAM (Assurance Maladie) sur 250.000 Femmes, étude réalisée entre 2006 et 2015.

Exposition prolongée à de fortes doses d'acétate de cyprotérone et risque de méningiome chez la femme

Etude pharmaco-épidémiologique de cohorte à partir des données du SNDS

Juin 2019

Rapport final



Lettre aux professionnels de santé

Juin 2019

Nouvelles conditions de prescription et de délivrance des spécialités à base d'acétate de cyprotérone dosées à 50 ou 100 mg (Androcur et ses génériques)

Information destinée aux dermatologues, endocrinologues, gynécologues, médecins généralistes, médecins pénitenciers, oncologues, pédiatres, psychiatres, urologues.

Madame, Monsieur,

L'ANSM souhaite vous faire part des **nouvelles conditions de prescription et de délivrance** des spécialités à base d'acétate de cyprotérone dosées à 50 ou 100 mg (Androcur et ses génériques).

Ces modifications font suite aux nouvelles données qui confirment que l'acétate de cyprotérone dosé à 50 ou 100 mg **favorise le développement de méningiomes**, particulièrement s'il est prescrit à forte dose et pendant une longue durée¹. Par ailleurs, d'autres données montrent que dans de nombreux cas les méningiomes liés à la prise d'acétate de cyprotérone peuvent régresser à l'arrêt du traitement.

Compte tenu de ces éléments l'ANSM a diffusé des recommandations aux professionnels de santé en octobre 2018. Les ventes d'Androcur et ses génériques ont déjà diminué de près de 50 % par rapport à l'année dernière, cette évolution doit se poursuivre. Aussi, l'ANSM renforce l'information et la surveillance des patients lors de la prescription et de la dispensation de ces traitements.

Vous trouverez ci-joint deux documents à remettre à vos patients traités par acétate de cyprotérone 50 ou 100 mg :

- ✓ un **document d'information**,
- ✓ une **attestation annuelle d'information** qui devra être signée par le patient et par le prescripteur avant toute prescription d'Androcur et ses génériques.

La durée de validité de cette attestation est d'un an. La poursuite du traitement au-delà d'un an nécessitera la co-signature d'une nouvelle attestation.

Le patient doit impérativement présenter une copie de l'attestation signée au pharmacien avant toute délivrance du médicament :

- à compter du 1^{er} juillet 2019 pour toutes les initiations de traitement,
- dès que possible et au plus tard le 1^{er} janvier 2020 pour les patients en cours de traitement.

Ces deux documents sont également disponibles sur les sites de l'ANSM (<http://ansm.sante.fr>) et de la base de données publique des médicaments (<http://base-donnees-publique.medicaments.gouv.fr>).

Les résumés des caractéristiques (RCP) et les notices d'Androcur et ses génériques seront modifiés en ce sens.

Conduite à tenir

- L'utilisation des spécialités d'acétate de cyprotérone dosées à 50 ou 100 mg n'est pas recommandée chez l'enfant et la femme ménopausée et les indications hors AMM telles que notamment l'acné, la séborrhée et l'hirsutisme modéré sont à proscrire.
- La posologie minimale efficace doit être utilisée.
- Les utilisations prolongées et à fortes doses sont à proscrire.
- L'acétate de cyprotérone ayant des propriétés contraceptives, des méthodes contraceptives efficaces doivent être utilisées en cas d'arrêt du traitement, y compris en cas d'une interruption ponctuelle (non délivrance en pharmacie en l'absence d'une copie de l'attestation d'information signée).

¹ Etude CNAM : "Exposition à de fortes doses d'acétate de cyprotérone et risque de méningiome chez la femme : une étude de cohorte en France de 2006 à 2015"

*Si des substances toxiques, des PE issus de notre environnement (tels que des hormones de synthèse) passent à travers la barrière du placenta durant le développement du fœtus, **le mécanisme de déroulement** nécessaire à l'expression de l'ADN foetal (élaboration des protéines puis des organes) **va être perturbé** par divers processus épigénétiques et en particulier **par un processus chimique de méthylation** (ajout d'un groupe méthyle CH₃) : l'équipe dirigée par le Docteur KEBIR a montré que cette méthylation intervenait au niveau de gènes codant pour deux protéines impliquées dans le **neuro développement, ZPF57** et **ADAM TS9**, une autre protéine impliquée également dans le contrôle du développement des organes sexuels.*



L'effet trans-générationnel du DES démontré chez l'animal (jusqu'à 8 générations chez la souris) et depuis peu chez l'Homme, constitue une véritable bombe à retardement.

La cohorte d'Hhorages constitue un exemple « grandeur nature » des dégâts provoqués par les hormones de synthèse, perturbateurs endocriniens, sur les enfants imprégnés in utero et qui présentent des troubles du comportement accompagnés ou non de troubles somatiques divers.

En 2004 déjà Theo Colborn* disait: « Le fœtus ne peut être protégé des perturbateurs endocriniens, quels qu'ils soient, qu'à la dose Zéro ».

*Th. Colborn.2004, Neurodevelopment and endocrine disruption. *Environmental Health Perspectives*,112: 944-949

Marie-Odile Soyer-Gobillard: elido66@orange.fr
www.hhorages.com