

8

Effets des radiations ionisantes sur la reproduction, le développement, et effets transgénérationnels

Chez l'animal et l'Homme, de nombreuses études ont montré que les radiations ionisantes peuvent induire des dommages aux cellules germinales mâles et femelles, en particulier au niveau de leur ADN. Bien que ces dommages n'affectent pas cliniquement l'animal ou l'individu lui-même, ils peuvent avoir des conséquences sur sa fonction de reproduction ; chez l'animal, il a été démontré que ces conséquences peuvent également se manifester sur les générations suivantes provoquant des désordres génétiques de différents types et de sévérité variable.

Chez l'Homme, les données dans le domaine de la transmission de maladies et d'anomalies génétiques à la suite d'une exposition aux radiations ionisantes sont assez rares et leur expérimentation peut poser des questions d'éthique. Les données les plus complètes sur les effets et conséquences des radiations sur la reproduction et sur les générations suivantes proviennent des expérimentations sur l'animal.

Ces travaux ont révélé que les conséquences des radiations sur la fonction de reproduction incluent essentiellement la baisse de la fertilité due aux dommages au niveau des cellules germinales, les fausses couches, la mort fœtale *in utero*, le changement du rapport mâle/femelle (*sex-ratio*) de la progéniture et les malformations congénitales.

Effets des radiations ionisantes sur la reproduction : données chez l'animal et l'Homme

Effets des radiations sur les cellules germinales femelles

Chez l'animal

Les estimations du risque génétique associé à une exposition aux radiations ionisantes ont été largement basées sur des données obtenues chez la souris. L'induction de dommages génétiques par les radiations a été étudiée dans les ovocytes de souris en utilisant des paramètres mesurables tels que les effets létaux dominants (mort embryonnaire ou fœtale), les mutations de loci spécifiques et les aberrations chromosomiques analysées par cytogénétique.

L'induction de dommages génétiques par les radiations a été étudiée au niveau des ovocytes à différents stades de maturation.

Chez les rongeurs ainsi que chez tous les mammifères, les ovocytes immatures au repos sont les principales cellules germinales femelles à risque de mutations héréditaires induites car, d'une part, elles ont une longue durée de vie⁷³ et, d'autre part, elles représentent de loin les principales composantes de la réserve germinale femelle (Adriaens et coll., 2009). Malgré de nombreuses tentatives pour détecter les effets génétiques de l'irradiation d'ovocytes de souris au repos (plus de 6 semaines entre l'irradiation et l'accouplement), aucune altération génétique détectable n'a généralement pu être observée dans ces cellules (synthèse dans UNSCEAR, 1986), excepté pour une irradiation chronique aux rayons gamma (Griffin et Tease, 1988).

La transposition de ces résultats négatifs aux femmes a été beaucoup remise en question en raison de certaines différences entre les ovocytes au repos de la souris et ceux de la femme. En effet, les chromosomes des ovocytes au repos de la souris sont de type dictyé, possédant une chromatine d'aspect pulvérulent alors que les chromosomes des ovocytes au repos chez la femme sont du type diplotène vrai (chromatine partiellement décondensée). De plus, les ovocytes au repos de la souris sont très sensibles aux radiations, puisque quelques centaines de mGy suffisent à tuer la plupart des ovocytes immatures chez la souris et à rendre celle-ci très rapidement stérile, alors que plusieurs Gy sont requis pour provoquer la stérilité chez une femme.

L'un des rares articles traitant de la sensibilité génétique des ovocytes de souris au stade diplotène vrai, semblable à celui de la femme, est celui de Selby et coll. (1991). Dans cette étude, des mutations de loci spécifiques ont

été observées après irradiation de souris femelles juste avant la naissance pour que les ovocytes soient au stade diplotène vrai, un stade qui, chez la souris, précède de quelques heures le stade de repos dictyé. Les ovocytes ont été irradiés par 3 Gy de rayons X et se sont révélés très résistants à la mort cellulaire, et la fréquence de mutations de loci spécifiques était très basse.

L'induction de dommages génétiques a également été étudiée dans les ovocytes de souris matures ou en maturation, révélant que la fréquence des dommages génétiques variait considérablement avec l'intervalle de temps entre l'irradiation et l'ovulation. Une irradiation d'ovocytes matures quelques heures avant l'ovulation induisait la fréquence la plus élevée de dommages génétiques, alors qu'une irradiation appliquée quelques jours (1,5 jour) avant l'ovulation réduisait cette fréquence, des intervalles plus longs entre irradiation et ovulation induisant une augmentation progressive des dommages génétiques (Searle et Beechey, 1974 ; Reichert et coll., 1975 ; Brewen et Payne, 1979 ; Hansmann et coll., 1982 ; Tease et Fisher, 1986 ; Jacquet, 2004 ; Jacquet et coll., 2005 ; Adriaens et coll., 2009).

L'incidence des anomalies du nombre de chromosomes et des anomalies chromosomiques structurelles induites par les rayons X a été examinée à différents stades de développement, allant des ovocytes en métaphase-II aux embryons post-implantatoires, après irradiation des ovocytes pré-ovulatoires de souris bloqués au stade de diacinèse (Tease et Fisher, 1996).

Après une irradiation unique par 1 Gy de rayons X, le taux d'hyperploïdie (gain de chromosomes) s'est révélé supérieur aux taux observés chez les témoins non irradiés, à la métaphase II, chez les embryons à une cellule et les embryons de 3,5 jours avant l'implantation, mais pas chez les fœtus de 8,5 jours après implantation. Dans ce dernier cas, cependant, la fréquence du mosaïcisme était considérablement accrue.

Des fréquences d'anomalies chromosomiques structurelles élevées étaient présentes dans les ovocytes au stade de métaphase II et aux stades embryonnaires pré-implantatoires, mais pas dans les préparations chromosomiques des fœtus post-implantatoires de 8,5 jours. Dans un premier temps, ces résultats semblaient confirmer ceux obtenus précédemment par Reichert et coll. (1984), qui ont suggéré que les embryons présentant des anomalies chromosomiques structurelles induites par l'irradiation par les rayons X d'ovocytes au stade pré-ovulatoire étaient incapables de survivre à terme. Cependant, une analyse chromosomique (G-banding⁷⁴) plus précise de fœtus issus de

74. Technique d'analyse en cytogénétique permettant la détermination d'un caryotype par coloration des chromosomes métaphasiques au Giemsa après traitement à la trypsine, engendrant l'apparition de bandes sombres sur les chromosomes.

l'irradiation d'ovocytes au stade pré-ovulatoire (1 Gy de rayons X) a montré par la suite que près de 14 % des fœtus post-implantatoires de 14,5 jours portaient un réarrangement chromosomique (Tease et Fisher, 1996). Dans cette étude, la survie des fœtus post-implantatoires n'a pas été suivie au-delà de 14,5 jours et aucun groupe témoin n'a été inclus.

Dans l'ensemble, ces données indiquent que la présence d'aberrations du nombre de chromosomes telles que le gain de chromosomes induit par les radiations est incompatible avec la survie embryonnaire, mais une proportion d'embryons présentant des lésions chromosomiques structurales sont capables de se développer au-delà de la moitié de la gestation. Ces derniers sont donc potentiellement capables de contribuer à la transmission des dommages génétiques à la génération suivante, à condition qu'ils survivent.

Quelques études cytogénétiques ont également été menées sur des ovocytes de hamster chinois irradiés avec 2 Gy à différents moments de l'ovulation. La sensibilité à l'induction des dommages chromosomiques était maximale au stade de diacinèse, puis diminuait avec des intervalles plus longs avant l'ovulation pour devenir très faible entre 1 et 3,5 jours avant l'ovulation (3,1 % des ovocytes présentant des aberrations). Ces résultats ont donc confirmé la plus grande sensibilité des ovocytes de rongeurs au stade de diacinèse, correspondant au passage de la prophase à la métaphase I. Cependant, compte tenu du taux d'aberrations, ils ont également suggéré que l'ovocyte de hamster chinois était environ deux fois moins radiosensible que l'ovocyte de souris (Kamiguchi et Mikamo, 1982 ; Mikamo, 1982).

Concernant les effets sur la fertilité, il a été montré que chez la souris, une dose de 0,5 Gy de rayons X réduisait d'un facteur 4 le nombre de portées, induisant ultérieurement une stérilité permanente. Cela peut être attribué à la destruction des ovocytes immatures enfermés dans les follicules primordiaux et à l'incapacité ultérieure de remplacer les plus grands follicules, les plus résistants, au fur et à mesure qu'ils mûrissent jusqu'à l'ovulation. La haute sensibilité des stades folliculaires précoces et la faible sensibilité des gros follicules ont été observées par analyse histologique chez la souris et le rat. Pour les ovocytes enfermés dans les follicules primordiaux, la DL50 (dose létale pour 50 % des ovocytes) chez la souris adulte était seulement d'environ 0,15 Gy, tandis que celle des ovocytes de rat était d'environ 1 Gy (Baker et coll., 1971).

Il existe peu d'informations sur les dommages aux ovocytes induits par les radiations chez d'autres rongeurs. Pour le hamster doré, il a été montré que, comme chez la souris, les ovocytes immatures sont plus sensibles que les ovocytes matures (Cox et Lyon, 1975). Les études d'irradiation sur des

nouveau-nés d'hamsters chinois dont les ovocytes se trouvent en méiose I, ont montré que la sensibilité de l'ovocyte à la mort cellulaire induite par les rayons X dépend du stade méiotique (Tateno et Mikamo, 1989). Les ovocytes de cette espèce se sont révélés très résistants aux rayonnements au stade pachytène, mais leur sensibilité a fortement augmenté pendant les phases entre le diplotène et le dictyotène, entraînant la mort de presque la totalité des ovocytes après exposition à 1 Gy (Tateno et Mikamo, 1984).

Des études réalisées par Jacquet et coll. (1994) ont suggéré que le cochon d'Inde (cobaye) pourrait représenter un meilleur modèle que la souris pour les études des effets génétiques suite à une exposition aux rayonnements ionisants chez les femmes. En effet, certaines caractéristiques morphologiques et physiologiques du cobaye femelle (structure et densité des ovaires, cycle œstral long avec sélection folliculaire, longue période de gestation avec folliculogénèse commençant à l'intérieur de l'utérus) (Bookhout, 1946 ; Deanesly, 1975) en font un modèle attrayant, plus proche de la situation chez la femme.

Chez le cobaye, Oakberg et Clark (1961) ont rapporté qu'une irradiation de 2 Gy de rayons X induisait une destruction des follicules multicouches dans un délai de 3 jours. La sensibilité élevée des gros follicules à la destruction cellulaire a ensuite été confirmée par Jacquet et coll., (1997a, b). En revanche, les follicules primordiaux portant de gros ovocytes présents à la naissance étaient extrêmement résistants, puisqu'une irradiation aux rayons X de 2 ou 4 Gy n'avait aucun effet significatif sur la fertilité des animaux évalués 6 et 12 mois après exposition (Jacquet et coll., 2001). L'analyse histologique des ovaires a suggéré que la DL50 pour les gros ovocytes au repos de cobaye était d'environ 4 Gy, une valeur proche de celle rapportée par d'autres auteurs pour des ovocytes humains au repos (Wallace et coll., 1989).

Chez l'Homme

L'ovaire de mammifères contient un stock défini de follicules au repos. L'espèce humaine compte approximativement $6,8 \times 10^6$ cellules germinales pendant la vie fœtale. À la naissance, ce nombre est déjà réduit à 2×10^6 cellules viables et il ne reste qu'environ 300 000 cellules germinales au début de la puberté. Au cours de la vie reproductive normale, 300 à 500 ovocytes matures seront ovulés. Cela signifie que la grande majorité des follicules (plus de 99 %) du stock initial est perdue par un processus d'atrésie (Baird et Mitchell, 2002 ; Simon et coll., 2005). C'est ce caractère non renouvelable du stock d'ovocytes qui le rend si vulnérable. En effet, l'exposition à des agents externes peut contribuer à accélérer l'épuisement des ovocytes,

pouvant entraîner une insuffisance ovarienne précoce, une perte du potentiel reproducteur et une apparition prématurée de problèmes associés à la ménopause chez les jeunes femmes (Waxman, 1983 ; Ried et Jaffe, 1994 ; Blumenfeld et coll., 1999 ; Morita et Tilly, 1999). L'apoptose a été identifiée comme le mécanisme responsable de la perte spontanée des ovocytes en développement ainsi que de la perte d'ovocytes après traitement *in vitro* à la doxorubicine, un agent anticancéreux (Morita et Tilly, 1999 ; Morita et coll., 1999 et 2000).

En 1971, Baker rapportait que les femmes âgées de moins de 35 ans, ayant subi une exposition fractionnée aux rayonnements ionisants égale ou supérieure à 20 Gy, avaient conservé des ovocytes car des grossesses avaient été constatées. Ceci dit, la taille réelle du stock d'ovocytes ayant survécu n'est pas connue. Les follicules à couches multiples ont probablement été détruits bien avant les follicules primordiaux, comme cela avait été observé chez les singes et les cobayes (Baker, 1971 ; Oakberg et Clark, 1961). Depuis lors, et en raison de l'augmentation des taux de survie des patients sous traitement anticancéreux durant l'enfance ou à un jeune âge, de plus amples informations sur la fertilité après radiothérapie sont devenues disponibles (Wallace et coll., 2003).

La radiothérapie est maintenant une cause bien connue de dommages aux ovaires et de ménopause accélérée avec infertilité permanente. L'irradiation totale de l'axe cérébro-spinal, de l'abdomen ou du bassin expose potentiellement les ovaires à cette irradiation. Des résultats suggèrent que la dose nécessaire pour détruire 50 % des follicules primordiaux (DL50) serait inférieure à 2 Gy (Wallace et coll., 2003), au lieu de 6-18 Gy (Bianchi, 1983) ou de 4 Gy (Wallace et coll., 1989), comme évalué précédemment.

Le degré de dommage aux ovaires est lié au volume traité, à la dose totale d'irradiation, au protocole de fractionnement et à l'âge au moment du traitement, les femmes plus âgées risquant davantage d'être impactées (Lushbaugh et Casarett, 1976 ; Green, 1997 ; Meirov et Nugent, 2001 ; Wallace et coll., 2005). Ainsi, la dose stérilisante efficace (DSE : dose de radiothérapie fractionnée pour laquelle une insuffisance ovarienne prématurée se produit immédiatement après le traitement chez 97,5 % des patientes) diminue avec l'augmentation de l'âge au début du traitement, car la population de follicules primordiaux diminue avec l'âge. La dose stérilisante efficace à la naissance est de 20,3 Gy, 18,4 Gy à 10 ans, 16,5 Gy à 20 ans et 14,3 Gy à 30 ans (Wallace et coll., 2005).

Sur la base de la DL50 estimée à 2 Gy pour les ovocytes humains, il est désormais possible par des modèles de calcul de prédire de manière fiable

l'âge de l'insuffisance ovarienne après un traitement par une dose connue de radiothérapie. Ce modèle permet aux cliniciens de guider éventuellement les patientes vers des solutions de préservation de la fertilité (Wallace et coll., 2003 et 2005).

Effets des radiations sur les cellules germinales mâles

Chez l'animal

De manière similaire à d'autres tissus caractérisés par un fort taux de renouvellement cellulaire, le tissu testiculaire adulte est très sensible aux radiations comme démontré par des données recueillies à l'aide de modèles de rongeurs. Ceci est lié à la grande sensibilité des spermatogonies, cellules immatures pour lesquelles la dose létale moyenne a été estimée à 0,5 Gy (van der Meer et coll., 1992). Cependant, par rapport aux cellules somatiques, les cellules spermatogéniques sont moins radiosensibles, en termes de nombre de dommages à l'ADN (Ahmadi et Ng, 1999 ; Paris et coll., 2011). En effet, en raison de leur organisation spatiale étroite dans les tubes séminifères et par conséquent d'un apport en oxygène limité, les cellules spermatogéniques sont dans un état hypoxique spécifique qui les protège des radiations (Zheng et Olive, 1997). Comparées à la plupart des cellules somatiques, les cellules spermatogéniques sont également caractérisées par un taux de réparation de l'ADN plus lent, associé à une fréquence plus élevée de lésions non réparées (Ahmadi et Ng, 1999 ; Paris et coll., 2011).

Chez la souris, le stade du développement de la spermatogenèse au moment de l'irradiation montre que les cellules à division rapide sont les plus radiosensibles et particulièrement celles en phase mitotique (van Beek et coll., 1986). Ainsi, les spermatogonies semblent les plus radiosensibles, suivies des spermatides alors que les spermatozoïdes apparaissent comme les plus radio-résistants (Marjault et Allemand, 2016). À l'intérieur des tubules, les cellules spermatogéniques sont associées aux cellules de Sertoli qui fournissent les nutriments, les facteurs de croissance et les cytokines nécessaires à leur différenciation. Selon plusieurs auteurs, dans des études chez le rat, les cellules de Sertoli semblent très radio-résistantes (Delic et coll., 1986 ; Pineau et coll., 1989).

Finalement, l'âge de l'individu conditionne aussi les effets délétères des irradiations. En effet, les testicules sont d'autant plus sensibles que le sujet est jeune. Ainsi, la période prénatale est la plus radiosensible en comparaison à la pré-puberté, la puberté ou l'âge adulte (Tindal et coll., 1975 ; Coffigny et coll., 1982 ; Moreno et coll., 2001).

Les conséquences de l'irradiation des testicules chez la souris sont à la fois macroscopiques, à savoir la diminution du poids du testicule de manière dépendante de la dose 16 et 45 jours après exposition à 4 et 1 Gy, respectivement, et microscopique, avec l'épuisement des cellules dans les tubes séminifères et la réduction du nombre de spermatozoïdes 45 jours après une exposition à 0,25 Gy (Cordelli et coll., 2012).

Comme l'irradiation interfère avec l'intégrité des cellules germinales mâles, elle pourrait théoriquement induire une instabilité génétique transmissible à la descendance. La persistance de cette instabilité chez la souris sur plusieurs générations de descendants en absence de nouvelle irradiation (Nomura, 1982, 1983 et 2003) soulève la question d'un risque génétique ou de cancer différé.

En 1959, le groupe de Russell du Laboratoire national d'Oak Ridge a obtenu des résultats sur des souris montrant que la progéniture issue de spermatogonies irradiées ne présentait pas de durée de vie réduite ni de risque accru de cancer. Ces résultats sont décrits dans un article publié en 1993 (Cosgrove et coll., 1993).

En 1965, Kohn et coll. ont rapporté qu'il n'existait aucune preuve de réduction de la durée de vie ou d'augmentation du risque de cancer chez 3 000 descendants de souris de souche CAF1 dérivés de spermatogonies irradiées aux rayons X à des doses allant jusqu'à 7,2 Gy (Kohn et coll., 1965). Précédemment, il a été rapporté par le même groupe que ni le rapport mâle/femelle, ni la taille de la portée, ni le taux de mortalité au cours des cinq premières semaines de vie prénatale n'étaient influencés par une irradiation paternelle aux rayons X allant jusqu'à 7,2 Gy (Kohn et coll., 1960).

Dans les années 1980, Kirk et Lyon ont observé des malformations congénitales qui se manifestaient par des cas d'exencéphalie et de nanisme chez la première génération des parents mâles irradiés aux stades pré- et post-méiotiques avec de fortes doses de rayons X (1-5 Gy) (Kirk et Lyon, 1984). Par ailleurs, Nomura a publié une série d'articles montrant que les descendants de souris issus de spermatogonies irradiées présentaient un risque accru de développer des tumeurs (Nomura, 1982, 1983 et 1988).

Dans les années 1990, le groupe de Cattanaach a publié deux articles affirmant que les résultats de Nomura ne pourraient pas être reproduits après l'irradiation de cellules post-méiotiques (spermatides et spermatozoïdes), qui seraient plus sensibles aux radiations que les spermatogonies (Cattanaach et coll., 1995 et 1998). Il n'est pas possible de comparer directement les données des différents laboratoires car les souches de souris utilisées étaient différentes (Nomura utilisait les souches ICR, LT et N5, alors que Cattanaach et ses

collègues utilisaient des souches BALB/c et C3H, qui sont plus couramment utilisées).

Si l'effet transgénérationnel des radiations, rapporté par Nomura, dépendait de la souche utilisée, il ne peut pas être considéré comme une règle générale en raison de l'existence d'une consanguinité dans ces modèles murins.

Chez l'Homme

Plusieurs facteurs liés à l'irradiation auront un impact différent sur la sphère reproductive. Ainsi, chez l'homme, bien que l'irradiation aiguë soit moins bien tolérée en thérapeutique que l'irradiation fractionnée, cette dernière est plus toxique vis-à-vis du testicule, sauf lorsque l'intervalle entre les irradiations est suffisamment long pour permettre la régénération des cellules spermatogéniques atteintes (Speiser et coll., 1973). Le type de rayonnement et sa dose auront aussi une importance capitale sur la spermatogenèse. Il est couramment admis que les neutrons ou l'association neutrons-gamma sont plus cytotoxiques que les rayons gamma ou X administrés séparément (Rowley et coll., 1974).

La différenciation des cellules spermatogéniques dépend strictement de l'environnement somatique. Les cellules de Leydig, situées dans les espaces entre les tubes séminifères, déclenchent la stéroïdogénèse et sembleraient être les plus radio-résistantes au niveau testiculaire (Rowley et coll., 1974).

Changement du rapport mâle/femelle

Des études menées sur la drosophile ont montré que l'exposition du génome maternel à des radiations peut entraîner une augmentation de la fréquence de décès chez la progéniture masculine en raison de l'augmentation de la fréquence de mutations létales sur le chromosome X, avec pour conséquence une réduction du rapport mâle/femelle.

En revanche, lorsque le génome paternel est exposé à des radiations, le chromosome X irradié est transmis uniquement à la progéniture féminine. Par conséquent, les mutations dominantes liées au chromosome X peuvent affecter de manière préférentielle la survie de la progéniture féminine, ce qui peut entraîner une augmentation du rapport mâle/femelle. Comme cette hypothèse semble simple et que la collecte de données est assez facile, des données du rapport mâle/femelle ont été rapportées dans certaines études.

Les premières données issues d'études sur la descendance des survivants de la bombe atomique d'Hiroshima et Nagasaki révélaient que le rapport

mâle/femelle tend à diminuer dans le cas des expositions maternelles et à augmenter dans le cas des expositions paternelles (Neel et Schull, 1956 ; Schull et Neel, 1958), ce qui était en accord avec les tendances attendues de l'hypothèse mentionnée ci-dessus. Comme les résultats n'étaient pas statistiquement significatifs, des données supplémentaires étaient nécessaires. Les données plus larges, incluant les résultats de 140 542 enfants, n'ont pas corroboré les tendances initiales (Neel et coll., 1991).

Par ailleurs, dans la descendance de survivants de cancers traités par radiothérapie, il existe plusieurs études sur le rapport mâle/femelle, mais aucune d'entre elles n'a montré d'effet avéré de l'exposition des parents aux rayonnements (Chow et coll., 1990 ; Winther et coll., 2003).

Mortinatalité et naissance prématurée

Une étude américaine sur les survivants d'un groupe de patients traités par radiothérapie pour un cancer infantile, a montré, chez les filles exposées avant la ménarche, que les effets néfastes les plus probants sont la mortinatalité et le décès néonatal, bien qu'il n'y ait aucun risque associé à une exposition après la ménarche (Signorello et coll., 2010). Les auteurs ont interprété leurs observations comme représentant un effet des rayonnements sur l'utérus plutôt que sur les ovaires (ovocytes). Fait intéressant, il y avait aussi un risque accru d'avortement spontané dans une cohorte de femmes danoises survivantes d'un cancer durant l'enfance (Winther et coll., 2008). Cependant, la dosimétrie chez ces patientes danoises était très limitée, et il n'est donc pas clair si le risque accru d'avortement observé était associé à la radiothérapie ou à une exposition concomitante à la chimiothérapie.

Dans les études des descendants des survivants de la bombe atomique d'Hiroshima et Nagasaki, aucun excès de mortinatalité ni de décès néonatal n'a été rapporté (Otake et coll., 1990). En revanche, un excès de risque de mortinatalité a été observé chez les descendants des travailleurs du nucléaire de Sellafield (1957, Royaume-Uni) (Parker et coll., 1999). L'analyse de Parker et coll. (1999) a été beaucoup critiquée car elle utilise certains modèles mathématiques pouvant entraîner des biais et ne prend pas en compte certains facteurs associés à la mère, tels que l'âge et le nombre de grossesses, pouvant affecter le taux de mortinatalité (Little et coll., 1999 ; Abrahamson et Tawn, 2001). À l'heure actuelle, il n'y a pas de preuves fiables d'une augmentation de la mortinatalité chez les enfants de pères et de mères irradiés.

En résumé, l'exposition des cellules germinales aux rayonnements ionisants peut induire des aberrations chromosomiques structurales et du nombre de

chromosomes (études essentiellement chez l'animal) ainsi qu'une baisse de la fertilité (études chez l'animal et l'Homme).

Quant à la radiosensibilité des cellules germinales, il a été démontré qu'elle dépend non seulement de la dose reçue mais également du stade de maturation. Ainsi chez la souris, les ovocytes immatures sont plus radiosensibles que les ovocytes matures. Chez la femme, à l'inverse de la souris, les ovocytes immatures sont plus radio-résistants que les ovocytes matures. La radiothérapie est une cause de dommages aux ovaires, le degré de ces dommages étant lié au volume traité, à la dose totale d'irradiation, au protocole de fractionnement et à l'âge au moment du traitement.

De manière similaire chez l'Homme et la souris, les spermatogonies semblent les plus radiosensibles, suivies des spermatozoïdes, alors que les spermatozoïdes apparaissent comme les plus radio-résistants.

Effets transgénérationnels suite à une irradiation parentale : données chez l'animal et chez l'Homme

Les effets transgénérationnels sont les effets observés dans la descendance après l'irradiation d'un ou des deux parents avant la conception⁷⁵. Les travaux sur les effets transgénérationnels ont fait l'objet de nombreux débats et controverses, et la signification biologique de certains paramètres analysés a été mise en doute.

Les données récentes qui montrent des effets transgénérationnels des radiations s'appuient sur des techniques moléculaires utilisées pour caractériser les altérations génétiques et les modifications épigénétiques dans la descendance non irradiée.

Chez la souris, les altérations génétiques observées dans la descendance des parents irradiés incluent les aberrations chromosomiques, la formation de micronoyaux, une augmentation des mutations minisatellites/ESTR (séquences répétées) et une modification du profil d'expression de gènes, qui sont toutes des caractéristiques de l'instabilité génomique (Dubrova et coll., 2000a, b, c ; Morgan, 2003 ; Barber et coll., 2006).

Les modifications épigénétiques induisent des changements d'expression des gènes (transcription, traduction, et post-traduction) qui n'impliquent pas de modifications de la séquence d'ADN génomique. Ces processus épigénétiques

75. Pour des précisions sur la transmission transgénérationnelle, se reporter à l'introduction du chapitre 7 « Études épidémiologiques sur les effets d'une exposition préconceptionnelle ou *in utero* aux radiations ionisantes ».

jouent un rôle important, mais pas encore bien compris, dans l'instabilité génomique transgénérationnelle qui pourrait être associée au développement d'un cancer ultérieur. Les modifications épigénétiques observées dans la descendance des parents irradiés concernent principalement la méthylation de l'ADN, la modification du profil des micro-ARN non codants (miRNA), les ADN méthylases et histone acétylases, et les processus de condensation de la chromatine.

Chez l'animal

Malformations congénitales

Plusieurs études ont été consacrées aux effets des rayonnements sur l'incidence des anomalies congénitales graves chez la souris. Ainsi, des doses de rayonnement de 1 à 5 Gy pourraient doubler la fréquence de base des anomalies congénitales dans cette espèce, mais cette fréquence dépend du type de rayonnement, de la dose, du stade des cellules germinales et de la souche (Nomura, 1982, 1988 ; Kirk et Lyon, 1982, 1984 ; Russell et Kelly, 1982 ; Lyon et Renshaw, 1988 ; Müller et Schotten, 1995). En accord avec les conclusions d'autres études utilisant la létalité dominante, les mutations génétiques ou les aberrations chromosomiques comme outils de mesure des effets des radiations, Kirk et Lyon (1982) ont rapporté que l'incidence des anomalies congénitales augmentait avec le temps entre l'exposition et la conception.

Les malformations congénitales les plus fréquemment observées après irradiation parentale chez la souris, sont le nanisme (défini par un poids à la naissance inférieur de 75 % à la moyenne de la portée) et l'exencéphalie (souvent associée à l'exophtalmie avec les yeux ouverts). La base génétique des anomalies n'a pas été complètement établie. Cependant, certains travaux ont pointé l'implication de mutations dominantes avec une pénétrance élevée qui sont exprimées et éliminées en grande majorité dans la première génération. Des études complémentaires ont montré que la base génétique des anomalies congénitales était hétérogène, certaines anomalies étant dues à des mutations de gènes de haute pénétrance et rapidement éliminées, et d'autres dues à des gènes de faible pénétrance et transmissibles à la génération suivante de manière mineure (Kirk, 1982 et 1984 ; Nomura, 1982 et 1988 ; Lyon, 1988).

Aberrations chromosomiques

Chez les souris, il existe des preuves d'une augmentation de dommages à l'ADN dans la première génération (F1) issue de pères irradiés. Des mâles

de la souche BALB/c et CBA/Ca ont été respectivement irradiés avec 1 et 2 Gy de rayons X, puis accouplés 6 semaines après l'irradiation (et donc au stade spermatogonie) à des femelles non irradiées de la même souche. Le test des comètes⁷⁶ effectué au niveau de la moelle osseuse de la progéniture mâle F1 a révélé un taux anormalement élevé de fragmentation de l'ADN (Clermont, 1972 ; Barber et coll., 2006). Un dédoublement du nombre de foci γ -H2AX (détectant des cassures double-brin de l'ADN) a également été constaté dans des échantillons de rates congelées provenant des descendants de la première génération des deux souches (Barber et coll., 2006). Ces études apportent la preuve d'une instabilité génomique dans la génération F1.

Chez le rat, des aberrations chromosomiques ont été observées au niveau des cellules hépatiques, dont la prolifération était stimulée par hépatectomie partielle, chez les première et deuxième générations issues de pères exposés à de fortes doses de rayons gamma. Dans cette étude, des rats Wistar mâles avaient reçu 3 Gy de rayons gamma, 25 jours avant l'accouplement (stade spermatides post-méiotiques) avec des femelles non irradiées. Cette étude fournit des arguments en faveur d'une instabilité transgénérationnelle du génome. Cependant, cette étude où les cellules germinales concernées ont été irradiées au stade spermatides post-méiotiques reste isolée et nécessite confirmation par d'autres études indépendantes (Slovinska et coll., 2004).

Altération de la prolifération cellulaire

Il est établi depuis de nombreuses décennies que les micro-organismes et les cellules en culture qui survivent à des doses de rayonnement supérieures à 0,5 Gy, par exemple, présentent fréquemment une diminution du taux de prolifération cellulaire. Cela peut également se produire chez l'animal entier. Des tests de chimères d'agrégation d'embryons pré-implantatoires ont été exploités dans une série d'études dans lesquelles la capacité de prolifération relative de cellules embryonnaires présentant des antécédents d'irradiation a été comparée à des cellules non irradiées.

Afin de tester la capacité de prolifération des embryons issus des cellules germinales paternelles exposées à une irradiation, des souris mâles ont été irradiées et accouplées une fois par semaine pendant 9 semaines après irradiation, afin d'évaluer la réponse des cellules germinales mâles matures (semaine 1 après irradiation) ou précoces telles que les cellules souches appelées spermatogonies (semaines 8-9 post-irradiation).

76. Test microélectrophorétique qui permet d'évaluer *in vitro* et *in vivo* les cassures d'ADN simple- et double-brin.

Une première étude a montré une altération de la prolifération pour les cellules présentant des antécédents d'irradiation paternelle (0,05 Gy, 0,17 Gy ou 1,73 Gy). La réduction de la prolifération a atteint son pic maximal à la 7^e semaine (Obasaju et coll., 1989). Dans une étude ultérieure plus détaillée, des souris mâles ont été brièvement irradiées avec les rayons gamma du césium-137 à différentes doses (0,0015, 0,005, 0,010 ou 0,05 Gy) et ensuite accouplées au cours de 8 semaines consécutives à des femelles non traitées. Là encore, des diminutions significatives des taux de prolifération ont été observées aux semaines 4, 6 et 7 après irradiation pour le groupe recevant la dose de 0,01 Gy et aux semaines 5 et 6 pour le groupe recevant la dose de 0,05 Gy (Warner et coll., 1991). D'autres travaux ont montré que le déficit de la prolifération cellulaire persistait dans la deuxième génération d'embryons (F2) lorsque les mâles F0 recevaient 1 Gy de rayons gamma 6 et 7 semaines avant la conception de la première génération (F1) (Wiley et coll., 1997). Le déficit de prolifération observé lors de l'irradiation des spermatogonies semble présent dans les cellules germinales mâles ainsi que dans les cellules embryonnaires de la deuxième génération (Baulch et coll., 2002).

Des expériences visant à élucider le mécanisme moléculaire associé au déficit de prolifération cellulaire chez la souris ont révélé l'implication de la communication intercellulaire *via* les jonctions lacunaires (*gap junctions*) (Vance et Wiley, 1999) ainsi qu'une altération de l'expression de certains gènes régulateurs de la prolifération, qui persisterait dans la troisième (F3) et la quatrième (F4) générations (Baulch et coll., 2001 et 2005).

Une autre étude a observé la prolifération cellulaire chez des rats ayant subi une hépatectomie partielle. Les hépatocytes des descendants de rats Wistar mâles ayant reçu 3 Gy 25 jours avant l'accouplement (c'est-à-dire au stade spermatide post-méiotique) ont montré une activité de prolifération réduite par rapport aux hépatocytes de la progéniture des rats non irradiés. Cette réduction de prolifération était associée à une fréquence plus élevée d'aberrations chromosomiques et une proportion plus élevée de cellules avec des fragments d'ADN apoptotiques. Des modifications similaires, bien que moins prononcées, ont été observées dans les cellules hépatiques en régénération chez les première (F1) et deuxième générations (F2) de rats mâles irradiés (Slovinska et coll., 2004).

En résumé, un déficit de prolifération cellulaire persistant sur plusieurs générations a été rapporté dans la progéniture de souris mâles irradiés. Chez le rat, un travail plus limité a confirmé cette observation. Cet effet impliquerait probablement des modifications épigénétiques au niveau de l'expression de certains gènes impliqués dans la régulation du processus de prolifération.

Modifications de séquences ESTR (Expanded Simple Tandem Repeat)

Diverses études ont examiné les fréquences des modifications moléculaires des séquences d'ADN répétées en tandem en tant qu'indicateurs potentiels du risque mutationnel au niveau de la lignée germinale après une exposition à des radiations (Bouffler et coll., 2006). Chez les souris, les loci ESTR (*Expanded Simple Tandem Repeat*) instables présentent un taux de mutation spontanée très élevé dans les cellules germinales et somatiques, probablement en raison d'un mécanisme de glissement de réplication similaire à celui de l'instabilité des microsatellites. En effet, les ESTR sont structurellement similaires aux microsatellites, simplement plus longs.

Plusieurs études d'analyse de pedigree génétique effectuées chez la souris par différents groupes de recherche ont montré de fortes fréquences de mutation ESTR chez la progéniture de première génération (F1) (mutations induites dans la lignée germinale F0) issue de souris mâles exposées à des agents chimiques mutagènes (Vilarino-Güell et coll., 2003) et à des radiations ionisantes (Dubrova et coll., 1998a et b ; Fan et coll., 1995 ; Somers et coll., 2004 ; Adiga et coll., 2010). Dans ces études, l'augmentation des fréquences de mutations ESTR était dépendante de la dose et dans certains cas du stade de la spermatogenèse au moment de l'irradiation. En raison des très hautes fréquences d'induction, il a été conclu que les mutations résultaient d'une forme d'instabilité conduisant à des événements non-ciblés dans la lignée germinale irradiée.

Utilisant la même technique d'analyse de pedigree, Barber et coll. (2002) ont examiné chez 3 lignées de souris, les mutations ESTR *de novo* qui apparaissent dans les lignées germinales des progénitures de première et deuxième générations (F1 et F2) non irradiées issues de souris mâles irradiées à différents moments de la spermatogenèse. Cette étude a montré une augmentation du taux des mutations ESTR dans la première et la deuxième génération. Une analyse plus poussée de la descendance F1 et F2 non exposée a montré que des taux élevés de mutation ESTR étaient accompagnés de mutations élevées de gènes codants pour des protéines (*ie*, *hprt*) non seulement au niveau de la lignée germinale, mais également dans les tissus somatiques, tels que la rate et la moelle osseuse (Barber et coll., 2006).

Une étude ultérieure sur des souris mâles Balb/C irradiées une seule fois aux rayons gamma (0,10 à 1 Gy) au stade pré-méiotique a confirmé l'augmentation de mutations ESTR au niveau des cellules germinales et somatiques (cerveau) de la première génération et a rapporté une dose seuil de 0,5 Gy. Les auteurs ont rapporté que l'événement de type seuil dépend de la quantité de dommages à l'ADN chez les individus F0. L'exposition unique aux

radiations de la génération F0 induirait des changements permanents du profil épigénétique chez les F0 qui seraient transmis à la génération suivante (F1) et déstabiliseraient leur génome (Mughal et coll., 2012).

Induction de cancers

Les travaux de Nomura concernant les tumeurs héréditaires chez la souris suite à une irradiation de la lignée germinale mâle par des rayons X ont révélé une augmentation significative du nombre de tumeurs du poumon, principalement des adénomes bénins, chez les descendants (Nomura, 1982 et 1983).

Ces tumeurs ont été héritées comme s'il s'agissait de mutations dominantes avec une pénétrance d'environ 40 %. L'induction d'adénomes bénins s'est révélée un modèle utile de carcinogenèse radio-induite, et les tumeurs peuvent être analysées de manière quantitative dans les poumons rendus translucides (Ullrich, 1980).

Depuis les études initiales de Nomura, des effets héréditaires d'une exposition parentale avant la conception ont été rapportés (Lord et coll., 1998 ; Hoyes et coll., 2001) mais, là encore, des résultats contradictoires peuvent être obtenus lorsque différentes souches de souris sont impliquées.

Par exemple, Cattanaach et coll. (1995) ont utilisé des souris BALB/cJ pour étudier l'induction de tumeurs du poumon chez les descendants de souris mâles irradiées. Dans leur étude, les auteurs ont utilisé les conditions expérimentales telles que définies par Nomura (Nomura, 1982). Cependant, les résultats ont été négatifs. L'incidence tumorale observée n'était pas plus élevée chez les descendants d'animaux irradiés que chez les témoins non irradiés.

En revanche, il convient de souligner que les auteurs ont trouvé que l'irradiation avait une incidence sur la proportion de femelles fertiles et sur la taille moyenne de la portée, montrant une réponse létale dominante dépendante de la dose.

En essayant de concilier ces différences, les auteurs ont suggéré que les incohérences observées pourraient être dues à des variations saisonnières. Alternativement, les différences rapportées pourraient refléter les différences de souches des souris utilisées.

En appui à ses découvertes expérimentales initiales (Nomura, 1975), Nomura a émis l'hypothèse que si des mutations de la lignée germinale induites par les rayonnements entraînaient des tumeurs héréditaires du poumon chez la

progéniture, toutes les cellules du poumon devraient alors porter les mêmes mutations et avoir une chance égale de former une tumeur.

Après exposition postnatale à l'uréthane, un agent chimique cancérigène, de la descendance issue de mâles irradiés, Nomura a décrit une augmentation significative du nombre de nodules tumoraux dans les poumons (Nomura, 1982 et 1983). L'auteur a conclu que l'irradiation paternelle préconceptionnelle pouvait induire des changements transmissibles rendant la progéniture plus sensible aux expositions ultérieures à des agents endommageant l'ADN. Par la suite, d'autres études confirmant les conclusions de Nomura ont été publiées.

Lord et ses collègues ont démontré que l'irradiation paternelle préconceptionnelle au plutonium injecté (^{239}Pu /particules), aux rayons gamma du césium-137 ou avec un radionucléide émetteur d'électrons Auger (^{55}Fe) pouvait conduire à un effet transgénérationnel, à savoir une augmentation des leucémies chez la progéniture et une sensibilité accrue à une exposition à un agent cancérigène secondaire, la méthylnitrosourée (Lord et coll., 1998). En utilisant une souche non consanguine (SHR), une autre étude a démontré chez les F1 issus de mâles irradiés une augmentation de tumeurs du poumon après traitement postnatal à l'uréthane (Vorobstova et Kitaev, 1988). Par la suite, le même groupe a montré une augmentation du cancer de la peau chez les F1 issus de mâles irradiés après exposition postnatale au TPA (12-O-tétradécanoylphorbol-13-acétate), un puissant inducteur de tumeur (Vorobstova et coll., 1993).

Concernant les leucémies, Nomura n'a pas constaté d'augmentation chez les descendants de souris ICR irradiées à haut débit de dose au stade spermatogonie. En revanche, lorsque les spermatogonies des souris N5 étaient irradiées, l'incidence de la leucémie aiguë lymphocytaire était 10 fois plus élevée chez la progéniture que chez les témoins non irradiés (Nomura, 1978, 1982, 1986 et 2003). Une fois encore, les différences de souches peuvent être à l'origine de la variation de prédisposition génétique à l'induction de leucémie par les radiations.

Modifications épigénétiques

Chez la souris C57BL, Koturbash et coll. (2006) ont étudié la méthylation de l'ADN au niveau des cytosines dans les tissus somatiques des descendants non exposés issus de parents irradiés de manière globale avec une seule dose de 2,5 Gy. Les auteurs ont observé une perte générale de la méthylation de l'ADN associée à une expression plus faible de l'ADN méthyltransférase DNMT3b dans le thymus de la progéniture F1 ainsi qu'à une augmentation

des dommages à l'ADN reflétés par l'augmentation des foci γ -H2AX (phosphorylation d'histone H2AX qui se lie et s'accumule au niveau des brins d'ADN endommagés). Ces observations reflètent une instabilité du génome chez la progéniture conçue une semaine après l'exposition paternelle.

Filkowski et coll. (2010) ont étudié le rôle de l'épigénétique dans l'instabilité génomique transgénérationnelle chez la souris C57BL. Ils ont montré qu'une irradiation paternelle globale à haut débit de dose avec 2,5 Gy de rayons X induirait dans le thymus de la descendance de première génération une altération du microRNAome (augmentation de la famille miR29), une hypométhylation de l'ADN due à la diminution des ADN méthyltransférases DNMT3 et la réactivation des éléments transposables qui affectent l'expression normale des gènes. Ces modifications délétères influencent la stabilité génomique de la descendance et pourraient avoir un effet carcinogène à long terme.

Dans une étude portant sur les conséquences transgénérationnelles d'une irradiation paternelle crânienne, localisée, Tamminga et coll. (2008) ont montré une hypométhylation de l'ADN au niveau des cellules somatiques (moelle osseuse, thymus et rate) ainsi qu'une réduction de l'expression des ADN méthyltransférases DNMT1 et 3 chez la progéniture non exposée conçue une semaine après l'exposition paternelle.

Plus récemment, Kamstra et coll. (2018) ont exploré le profil de méthylation sur plusieurs générations de poissons zèbres issus de parents irradiés. Ces auteurs ont rapporté des modifications du profil de méthylation sur des sites génomiques bien spécifiques (la région promotrice) persistant sur 3 générations.

Chez l'Homme

Modifications génétiques

À ce jour, aucune maladie génétique, c'est-à-dire héréditaire, induite par un rayonnement ionisant n'a été formellement démontrée dans une population humaine exposée aux rayonnements ionisants. Les études sur les descendance d'individus traités par radiothérapie pour un cancer (Byrne et coll., 1998) ou des femmes traitées par irradiation pendant la petite enfance pour un hémangiome (Kallen et coll., 1998) n'ont pas démontré d'effets significatifs attribuables à l'exposition parentale aux rayonnements ionisants (UNSCEAR, 2001). De plus, un certain nombre d'études impliquant des enfants de survivants des bombes atomiques d'Hiroshima et Nagasaki n'ont pas permis de détecter des effets génétiques transmis à la descendance à la suite de l'exposition aux radiations (Neel et coll., 1980 ; Kodaira et coll.,

1995 ; Satoh et Kodaira, 1996 ; Satoh et coll., 1996). Dans ce contexte, une cohorte de 31 150 enfants nés de parents qui se trouvaient à moins de 2 km de l'hypocentre au moment des bombardements a été comparée à une cohorte témoin de 41 066 enfants. Au cours des premières années de l'enfance, les anomalies congénitales, le développement physique et la survie ont été étudiés. En plus d'une évaluation médicale complète, des études cytogénétiques ont été réalisées et les propriétés électrophorétiques d'une série de protéines sériques ou d'enzymes érythrocytaires ont été analysées. Aucun de ces indicateurs n'a été modifié de manière significative à la suite de l'exposition parentale aux radiations (Neel, 1998).

Par ailleurs, d'autres études génétiques ont été effectuées sur la population exposée à la suite de l'accident de Tchernobyl. Une augmentation de la trisomie 21 (syndrome de Down) a été signalée dès neuf mois après l'accident à Berlin-Ouest (Sperling et coll., 1994). De manière similaire, une telle augmentation a été rapportée en Bavière (Burkart et coll., 1997). Cependant, d'autres études ont remis en cause l'imputabilité des retombées de Tchernobyl dans ces observations car l'exposition aux radiations était très faible (Burkart et coll., 1997). À ce titre, il est important de mentionner que la prévalence du syndrome de Down a été rapportée comme étant plus élevée à Berlin-Ouest (0,0061) que dans les zones contaminées de la Biélorussie (0,0026) neuf mois après l'accident de Tchernobyl (Sperling et coll., 2012). En outre, le taux plus élevé en Bavière pouvait être attribué à une période précédant les retombées.

En Hongrie, aucune augmentation du syndrome de Down n'a été observée après l'accident de Tchernobyl (Czeizel et coll., 1991) et une étude couvrant l'Europe a montré des résultats similaires (de Wals et coll., 1988).

Malformations congénitales

À la suite de l'accident de Tchernobyl, plusieurs études ont été ré-analysées par Little (1993) pour examiner la fréquence des anomalies congénitales et d'autres conséquences sur la reproduction. Little a conclu qu'il n'existait aucune preuve cohérente d'un effet radio-induit sur la grossesse à la suite de l'accident de Tchernobyl. Cependant, ces études ont apporté des preuves d'effets indirects, notamment une augmentation des avortements provoqués en raison des anxiétés créées. Le nombre de ces avortements était suffisamment important pour expliquer une réduction du nombre total de naissances post-Tchernobyl.

Dans le rapport du Forum des Nations Unies sur Tchernobyl (WHO, 2006), étant données les doses reçues par les parents avant ou après la conception,

il apparaît que les études épidémiologiques réalisées après l'accident sont cohérentes avec la littérature scientifique antérieure. Elles ne montrent pas d'augmentation des malformations ou de la mortalité infantile comme conséquence directe de l'exposition aux radiations.

Parmi les autres études épidémiologiques, on compte celles portant sur les enfants des survivants d'Hiroshima et Nagasaki (Neel et coll., 1991), sur des patients traités par radiothérapie dans l'enfance (Byrne et coll., 1998 ; Kallen et coll., 1998 ; Winther et coll., 2009 ; Green et coll., 2009 ; Tawn et coll., 2011 ; Signorello et coll., 2012) et sur les travailleurs du secteur nucléaire (Doyle et coll., 2000).

Dans leur ensemble, ces études n'ont pas montré de lien entre l'exposition parentale à de faibles doses de rayonnement et une issue défavorable de la grossesse.

Peu d'études disposent d'un pouvoir statistique suffisant pour conclure de façon définitive. En effet, soit les doses sont trop faibles, soit les populations étudiées sont trop petites. Les données ne montrent pas d'association entre l'exposition parentale aux radiations et les anomalies congénitales dans leur ensemble. S'il existe une association, il s'agit probablement d'un lien faible entre l'exposition aux radiations des pères et l'augmentation du nombre de mort-nés et des anomalies du tube neural (spina-bifida et anencéphalie) chez leurs enfants. Toutefois, seulement deux études, portant sur des travailleurs du secteur nucléaire, le Site d'Hanford aux États-Unis et de Sellafield au Royaume-Uni, ont rapporté de tels effets (Sever et coll., 1988a, b ; Parker et coll., 1999). Il est intéressant de noter que les auteurs de l'étude du Site d'Hanford ont eux-mêmes conclu que les corrélations positives mentionnées dans leur étude pourraient fortement représenter des faux-positifs, au vu du nombre important de tests statistiques effectués, et que l'étude de Parker sur les travailleurs du site nucléaire de Sellafield était en contradiction avec des études antérieures concernant le même site (Gardner et coll., 1987 ; Dummer et coll., 1998).

Récemment, un rapport portant sur les conséquences génétiques des essais nucléaires français dans le Pacifique a fait mention d'un nombre de cas particulièrement élevé de troubles envahissants du développement associés à des anomalies morphologiques et/ou des retards mentaux chez les petits-enfants des vétérans du Centre d'Expérimentation du Pacifique (CEP) ou des habitants des atolls concernés par les essais nucléaires (Sueur, 2018). Dans ce rapport, l'auteur pose l'hypothèse d'un effet transgénérationnel chez l'homme en génération F2 suite à l'exposition de la génération F0 à de faibles doses de radiations. Cependant, plusieurs questions liées à cette hypothèse

restent à éclaircir avant de pouvoir attribuer aux radiations les pathologies décrites chez les petits-enfants des vétérans ou des habitants des atolls exposés. L'absence d'informations dosimétriques précises concernant les grands-parents des enfants diagnostiqués ne peut permettre d'établir un lien, qui plus est causal, entre ces affections pédopsychiatriques et les radiations ionisantes. D'autre part, si des dommages et donc des mutations peuvent être produits chez un individu de la génération F0 exposé aux radiations ionisantes, ces mutations radio-induites ne sont transmissibles que sous des contraintes physiques et biologiques très fortes (doses suffisamment élevées mais entraînant des dommages sublétaux ; tolérance aux cassures de l'ADN non réparées pendant l'embryogénèse) (Inserm, 2018).

Il est important de garder à l'esprit que les études portant sur les populations humaines sont difficiles à interpréter, car les effets attribués aux radiations pourraient être dus à d'autres facteurs liés au mode de vie et à l'environnement (consanguinité, stress génotoxique, exposition à d'autres agents) (UNSCEAR, 2001 ; COMARE, 2004).

La transmission de mutations directement radio-induites à la génération F1 est très improbable dans le cadre des retombées des essais nucléaires en Polynésie française. Elle l'est donc plus encore pour la génération F2 à moins que d'autres cofacteurs interviennent. Dans ce cas, les radiations ne peuvent être impliquées directement dans les cas cliniques rapportés en F2.

Mutations minisatellites

L'analyse des taux de mutations au niveau de séquences du génome appelées minisatellites a été appliquée pour étudier les effets génétiques dans les populations humaines exposées aux radiations.

Les minisatellites humains sont constitués de séquences répétées en tandem d'un motif de base de 10 à 100 pb et certaines sont hautement polymorphes entre les individus dans la séquence du motif répété mais aussi dans le nombre de répétitions. Comme ces séquences portent davantage de mutations que les séquences codantes, elles constituent des marqueurs attrayants pour le dépistage des populations quant aux effets génétiques d'agents mutagènes.

Une augmentation du taux de mutations des minisatellites a été rapportée chez les enfants des personnes vivant dans les régions les plus contaminées suite à l'accident de Tchernobyl (Dubrova et coll., 1996 et 1997). Cependant, les résultats de cette étude ont été critiqués pour différentes raisons. Premièrement, il a été avancé que l'utilisation de familles britanniques en tant que groupe témoin introduisait un biais important ainsi que d'éventuelles différences ethniques / génétiques par rapport à la population

Biélorusse. Deuxièmement, les familles du Royaume-Uni auraient pu être exposées de différentes manières à une exposition environnementale telle qu'à des produits chimiques industriels et agricoles potentiellement mutagènes susceptibles de contribuer aux variations retrouvées dans les lignées germinales. Troisièmement, les raisons pour lesquelles les familles ayant reçu des doses de rayonnement insignifiantes n'étaient pas incluses dans l'étude en tant que groupe témoin, ni pourquoi un deuxième ensemble d'enfants conçus avant l'accident n'avait pu être utilisé comme témoins n'étaient pas claires (UNSCEAR, 2001).

Pour confirmer les résultats de ces études et déterminer si le taux de mutations est également élevé au niveau de la lignée germinale d'autres cohortes post-Tchernobyl, Dubrova et coll. (2002a) ont étendu l'étude au groupe de familles vivant dans les zones contaminées de Kiev et de Zhitomir en Ukraine. Dans cette nouvelle étude, les groupes non exposés et exposés portaient le même patrimoine génétique. Les résultats ont révélé une augmentation statistiquement significative (d'un facteur 1,6) du taux de mutations dans la lignée germinale des pères exposés.

Au cours de la même année, l'étude de mutations des minisatellites effectuée par le même groupe sur 40 familles vivant dans le district hautement contaminé du Kazakhstan aux alentours du site de tests nucléaires de Semipalatinsk a révélé un doublement du taux de mutations des minisatellites chez les parents exposés et leurs enfants (Dubrova et coll., 2002b).

Ces résultats positifs de Dubrova et coll. (1996) contrastent avec ceux d'études similaires réalisées par d'autres groupes afin de déterminer le taux de mutations de la lignée germinale par l'étude des variations des mini- ou microsatellites chez les descendants des liquidateurs de Tchernobyl d'origine ukrainienne ou estonienne et qui se sont toutes révélées négatives (Livshits et coll., 2001 ; Kiuru et coll., 2003 ; Slebos et coll., 2004 ; Furitsu et coll., 2005 ; Ryo et coll., 2006). De plus, l'analyse des mutations de huit loci minisatellites hypervariables chez les enfants des survivants de la bombe atomique d'Hiroshima et Nagasaki, irradiés à des doses beaucoup plus élevées (dose moyenne : 0,1 Gy), s'est également révélée négative (Kodaira et coll., 1995 et 2004).

Plusieurs hypothèses pourraient expliquer la discordance entre les données recueillies auprès des enfants des survivants d'Hiroshima et Nagasaki et l'induction de mutations de la lignée germinale humaine dans la majorité des études impliquant les enfants de parents vivant dans un environnement contaminé par les radiations. En premier lieu, les expositions étaient différentes dans les deux types de populations. Les bombardements se sont traduits

par une exposition à très haut débit de dose avec une prédominance de rayons gamma et une faible contribution des neutrons, tandis que la contamination à Tchernobyl a entraîné des expositions à plus faible débit de dose à l'iode-131 et au césium-137 ainsi qu'à d'autres radionucléides internalisés. En outre, l'étude des minisatellites au Japon a été effectuée plus de 10 ans après l'exposition et, dans de nombreux cas, un seul parent avait été exposé. En revanche, dans l'étude de Dubrova sur les 127 familles de la région de Biélorussie les deux parents avaient été exposés à une irradiation chronique (Dubrova et coll., 1997), ce qui représente un scénario d'exposition très différent de celui des Japonais.

La controverse autour de l'induction de mutations au niveau des minisatellites est loin d'être résolue. May et coll. (2000) ont examiné la fréquence de mutation de minisatellites hypervariables dans le sperme de trois patients atteints de séminome (cancer testiculaire) après une radiothérapie hémipelvienne. Les doses de radiation diffusées aux testicules ont été répertoriées et les taux de mutation de l'ADN de spermatozoïdes avant traitement ont été comparés à ceux obtenus à partir de cellules méiotiques et post-méiotiques irradiées.

Aucun signe de mutation germinale induite par les radiations au niveau de ces loci hypervariables n'a été observé. La signification biologique et les conséquences ultimes des modifications induites par les radiations au niveau des minisatellites ne sont pas connues. Cependant, les loci minisatellites constituent un moyen permettant de surveiller efficacement les mutations germinales dans des échantillons de population relativement restreints et résolvent les problèmes liés aux taux de mutation intrinsèquement bas pour la plupart des locus de gènes qui nécessitent des échantillons de très grande taille pour les analyses génétiques traditionnelles.

Compte tenu de la fréquence des mutations dans ces allèles hypervariables et de l'absence de preuves formelles de différences significatives du taux de mutation entre les familles témoins et les familles exposées, il est peu probable que les loci minisatellites eux-mêmes soient la cible directe des radiations. Si l'augmentation du taux de mutation n'est pas directement causée par des dommages à l'ADN, elle pourrait résulter d'événements non ciblés associés à une instabilité génomique induite par les radiations (Dubrova et coll., 2000c).

Aberrations chromosomiques

Plusieurs études cytogénétiques ont été réalisées chez la descendance de parents irradiés pour des raisons médicales ou suite à une exposition

accidentelle afin de détecter une instabilité génétique qui pourrait jouer un rôle dans le cancer radio-induit et les maladies héréditaires. Ainsi, Tawn et coll. (2005) ont effectué une analyse cytogénétique sur 25 adultes traités par radiothérapie pour un cancer durant leur enfance, 26 sujets non irradiés (groupe témoin) ainsi que sur leurs 43 enfants. Les doses reçues aux gonades des parents variaient considérablement, les doses paternelles allant de 0,01 à 1,20 Gy et les doses maternelles allant de moins de 0,01 Gy à 9,20 Gy. Chez les patients irradiés, la fréquence des dicentriques était plus élevée que chez les témoins non irradiés. Cependant, la fréquence des aberrations potentiellement les plus transmissibles telles que les aberrations chromatidiques ou les lacunes chromosomiques, n'était pas plus élevée que chez les témoins. Chez les enfants, la fréquence des aberrations chromosomiques était plus faible que dans le groupe des enfants témoins. Ces résultats montrent une absence de transmission de l'instabilité génétique aux cellules somatiques de la descendance par le biais des cellules germinales. Dans cette étude, aucun effet transgénérationnel n'a été associé à la radiothérapie durant l'enfance.

Les descendants de première génération (F1) des survivants de la bombe atomique (Hiroshima et Nagasaki) ont eux aussi fait l'objet d'études cytogénétiques. Il n'est pas apparu d'augmentation du nombre d'enfants issus de parents exposés porteurs d'aberrations chromosomiques. Dans cette étude, la fréquence de l'aneuploïdie et des réarrangements structuraux au niveau des chromosomes sexuels était plus élevée pour les descendants des parents témoins que pour les descendants des parents exposés (Awa et coll., 1987).

Par ailleurs, une étude portant sur 79 enfants de liquidateurs de Tchernobyl (exposition moyenne 231 mSv) a rapporté une fréquence élevée d'aberrations chromosomiques au niveau des lymphocytes du sang périphérique par rapport aux enfants de parents non irradiés (Aghajanyan et coll., 2009). Cependant, les détails expérimentaux étaient insuffisants et la composition des sujets témoins manquait de clarté.

Une étude publiée ultérieurement par le même groupe et portant sur 39 enfants de 31 familles dont le père était liquidateur a également révélé des fréquences plus élevées de cellules aberrantes par rapport au groupe témoin (Aghajanyan et coll., 2011). Le délai entre l'exposition et la conception variait de 1 mois à 18 ans, mais ce facteur ne semble pas affecter la fréquence des cellules aberrantes. Cette étude a été critiquée car des méthodes statistiques inappropriées semblent avoir été utilisées et, comme dans l'étude précédente, la composition du groupe témoin manque de clarté.

En résumé sur les effets transgénérationnels, chez la souris, les études cytogénétiques réalisées sur les descendants de parents irradiés à fortes doses

montrent une instabilité génomique. Chez le rat, une étude rapporte également une instabilité génomique transgénérationnelle (Slovinska et coll., 2004), mais elle mérite d'être confirmée par d'autres études. En revanche, les études en populations humaines, où les doses moyennes d'exposition sont beaucoup plus faibles que les doses administrées dans les études sur les animaux, restent non concluantes.

Conséquences d'une irradiation de l'embryon ou du fœtus : données chez l'animal

Cette partie sur les conséquences d'une irradiation de l'embryon et du fœtus porte uniquement sur les données chez l'animal. Les données chez l'Homme sont développées dans le chapitre 7 « Études épidémiologiques sur les effets d'une exposition préconceptionnelle ou *in utero* aux radiations ionisantes ».

Les mammifères sont particulièrement sensibles aux radiations lors du développement prénatal. Les principaux effets des radiations sur l'embryon ou le fœtus peuvent aller de l'absence d'effets détectables jusqu'au décès prénatal, au décès néonatal, au retard de croissance, aux malformations congénitales et aux néoplasies postnatales. Lors de l'évaluation des effets de l'exposition aux rayonnements ionisants pendant la gestation, il est essentiel de prendre en compte toute une série de facteurs. Parmi ceux-ci figurent le type de radiations, la dose reçue par le fœtus et l'âge gestationnel. Selon leur âge gestationnel, deux fœtus peuvent être impactés différemment lorsqu'ils sont exposés à la même dose de rayonnement. Il est donc important de discuter des conséquences de l'irradiation *in utero* pendant les trois périodes du développement gestationnel.

Le développement du fœtus se divise globalement en trois phases principales présentant chacune une sensibilité particulière aux effets des radiations. Chez la souris, ces périodes sont la période pré-implantatoire, qui s'étend de la fécondation jusqu'à l'implantation de l'embryon dans l'utérus maternel (jusqu'au 5^e jour post-conception), la période de l'organogenèse durant laquelle les différents organes sont formés (du 5^e au 13^e jour post-conception), et la période fœtale, correspondant à la croissance des organes nouvellement formés (du 13^e au 20^e jour de la gestation)⁷⁷.

77. Chez l'Homme, la période pré-implantatoire s'étend jusqu'à la 2^e semaine post-conception, la période de l'organogenèse de la 2^e à la 8^e semaine après la conception, et la période fœtale de la 8^e semaine jusqu'à la fin de la grossesse.

Phase pré-implantatoire

Durant cette période, il existe un petit nombre de cellules présentant des mitoses fréquentes.

Durant les années 1970, les techniques *in vitro* furent introduites en radiobiologie pour étudier les effets et mécanismes d'action des radiations sur l'embryon pré-implanté. Ces techniques présentaient divers avantages tels que l'incubation dans des conditions bien définies ainsi qu'un timing rigoureux des traitements, la possibilité d'observer le développement de l'embryon à tout moment, et de réaliser des études morphologiques, cytogénétiques ou biochimiques spécifiques.

Dans les études consacrées aux effets des radiations sur l'embryon pré-implanté, on peut interrompre la mise en culture après 4 ou 5 jours, au moment où les embryons ont normalement atteint le stade de blastocyste prêt à s'implanter. Les résultats de ces études ont montré qu'outre leurs effets létaux, les radiations pouvaient affecter la vitesse de clivage des embryons pré-implantés et induire un retard dans leur développement.

La mort embryonnaire résultant d'une irradiation aux différents stades pré-implantatoires survient généralement vers le moment de l'implantation, c'est-à-dire lors de la formation du blastocyste. Toutefois, les valeurs de DL50 (doses nécessaires pour empêcher 50 % des embryons d'atteindre le stade de blastocyste) obtenues après irradiation aux divers stades montrent une grande variabilité selon les auteurs. Ainsi, les valeurs obtenues pour une irradiation au stade 2 cellules varient d'environ un facteur 2 à 4 Gy, tandis que pour le stade 4 cellules elles vont de 2 à 5 Gy. Les variations peuvent en partie s'expliquer par le fait que les embryons ont été irradiés à différents moments du cycle cellulaire. En effet, des études réalisées essentiellement sur des embryons aux stades 1 et 2 cellules rigoureusement synchronisés ont montré que la radiosensibilité de l'embryon peut varier grandement au cours du même cycle cellulaire. Ainsi par exemple, la radiosensibilité de l'embryon peut varier d'un facteur 10 au cours du même stade 1 cellule, et c'est dans les 4 à 8 heures suivant la fécondation qu'elle semble la plus élevée pour l'ensemble du développement embryonnaire pré-implantatoire, avec une DL50 située entre 40 et 70 cGy selon les souches de souris (Yamada et coll., 1982 ; Jacquet et Grinfeld, 1990).

Les mécanismes de la mort embryonnaire radio-induite ont été étudiés et les résultats ont mis en évidence la présence de dommages morphologiques sur l'embryon ainsi que d'aberrations chromosomiques structurales et du nombre de chromosomes. En effet, les premières études sur la mort embryonnaire

durant la période pré-implantatoire ont rapporté que des doses très faibles de radiations étaient capables de provoquer des dommages morphologiques de l'embryon. Des embryons qui n'avaient reçu que 5 cGy peu après la fécondation montraient déjà 6 heures plus tard des anomalies cytoplasmiques et nucléaires, une pycnose ou une dissolution complète des blastomères (Rugh, 1959). Des observations similaires ont été rapportées par la suite pour des embryons au stade 2 cellules irradiés *in vitro* aux rayons X (0 à 4 Gy) (Kirkpatrick, 1973).

D'autre part, certaines études ont suggéré que des anomalies chromosomiques, entre autres des aneuploïdies, pourraient jouer un rôle important dans la mortalité radio-induite. Ces études cytogénétiques réalisées sur des embryons aux stades 1 et 2 cellules irradiés ont montré que la mort embryonnaire radio-induite était clairement liée à la présence de micronoyaux. Une constatation intéressante était que de nouveaux micronoyaux apparaissaient au cours de la seconde ou même 3^e et 4^e mitose après l'irradiation. Ces micronoyaux étaient constitués de fragments chromosomiques acentriques mais aussi de chromosomes entiers, comme le montrait l'accroissement concomitant de métaphases hypoploïdes (Russell et Montgomery, 1966 ; Weissenborn et Streffer, 1988).

Les radiations peuvent également provoquer, à faibles doses, de simples retards de développement. Suite à une irradiation d'embryons unicellulaires de souche BALB/c, ceux-ci peuvent évoluer normalement jusque vers la fin de leur premier cycle cellulaire, mais demeurent ensuite bloqués juste avant la mitose, incapables de se diviser. Ce blocage temporaire de la division, connu sous le nom d'arrêt en G2 est un phénomène commun à toutes les cellules irradiées, mais il est très fortement amplifié chez les embryons unicellulaires BALB/c (Grinfeld et Jacquet, 1987).

Les expérimentations sur animaux ont généralement montré que l'effet des radiations ionisantes durant la période pré-implantatoire est de type « tout ou rien » : survie sans anomalie ou disparition de l'embryon (Russell et Russell, 1954). L'embryon unicellulaire (premier jour de la gestation) est plus sensible qu'aux stades ultérieurs à la mortalité induite par les radiations, principalement durant les premières heures suivant la fécondation.

Bien que controversées, certaines données expérimentales sur le modèle de souris remettent en cause la loi du tout ou rien de Russell et ne permettent toutefois pas d'exclure totalement un éventuel effet permanent d'une irradiation durant la période pré-implantatoire, et plus particulièrement au stade unicellulaire (Pampfer et Streffer, 1988 ; Müller et Streffer, 1990 ; Gu et coll., 1997 ; Jacquet et coll., 1995c ; Rutledge et coll., 1992). Ces études ont

montré qu'une irradiation de plus de 100 mGy peu après la fécondation peut augmenter le risque de malformations congénitales dans certaines souches de souris. Les mécanismes moléculaires impliqués dans les malformations congénitales suite à une irradiation de l'embryon au stade pré-implantatoire ne sont pas totalement connus. Cependant, les études sur la lignée Heiligenberger suggèrent un lien entre le gastroschisis, qui affecte le développement de la paroi abdominale, et l'instabilité génomique induite par les radiations telles que les cassures chromatidiques observées dans les fibroblastes de la peau (Pampfer et Streffer, 1988).

La radiosensibilité de l'embryon diminue fortement aux stades pluricellulaires étant donné que la perte d'une cellule non encore différenciée peut être compensée. En revanche, une trop grande mortalité cellulaire interdit tout développement embryonnaire⁷⁸.

Tenant compte de l'ensemble des travaux issus de l'expérimentation animale, la mortalité demeure la conséquence principale d'une irradiation au stade pré-implantatoire. Toutefois, aux doses généralement utilisées en radiologie diagnostique et en médecine nucléaire, on peut considérer la période pré-implantatoire comme à « très faible risque » de complications futures pour l'enfant à naître.

Phase de l'organogenèse principale

Pendant la période de l'organogenèse, le risque principal est celui de malformations congénitales. À chaque espèce correspond une période de susceptibilité pour le développement d'une malformation particulière et celle-ci coïncide avec le moment de la différenciation et de l'organisation de la structure concernée (Brent, 1960 ; Semagin, 1964 ; Ohzu, 1965 ; Cahill et Yuile, 1970 ; Devi et Baskar, 1996 ; Derradji et coll., 2008). L'augmentation de la dose de radiations se traduit par le prolongement de la période de susceptibilité et l'augmentation de l'incidence des malformations.

Il est généralement admis que le mécanisme responsable de l'apparition des malformations est la mort cellulaire qui résulte en l'arrêt du développement de la structure à un stade précoce. L'apparition de malformations est un phénomène déterministe, c'est-à-dire qu'il est régi par un seuil déterminé par le nombre de cellules endommagées non remplaçables dans la structure

78. Il convient également de noter qu'en dehors de toute irradiation, la perte embryonnaire « spontanée » durant cette période pré-implantatoire a été estimée chez l'Homme à environ 15 %, tandis qu'environ 20 % des grossesses se termineraient au moment de l'implantation. Parallèlement, dans l'espèce humaine, l'incidence d'anomalies congénitales « spontanées » atteint 6 %.

en développement, et donc par la dose reçue. D'après les résultats d'études expérimentales, l'apparition de malformations présenterait un seuil d'environ 100 mGy (UNSCEAR, 1986). Cependant, dans certaines études, des malformations ont été observées avec des doses de radiations inférieures à 100 mGy quand celles-ci étaient délivrées au cours de la période critique du développement de l'organe concerné. Ainsi, une dose aussi faible que 0,05 Gy peut provoquer une polydactylie (Ohzu, 1965), une malformation du squelette, une diminution du poids de la portée et une réduction de la longueur de la queue chez la souris (Jacobsen, 1965). Des faibles doses similaires sont également connues pour produire des anomalies chez le rat (Brent, 1960). De faibles expositions continues aux radiations par des rayons X (1 cGy/jour) ou à l'eau tritiée (0,3 à 3,0 cGy/jour) tout au long de la gestation ont entraîné une diminution du poids du cerveau chez le rat (Semagin, 1964 ; Cahill et Yuile, 1970).

En plus des malformations congénitales, l'irradiation du fœtus au stade de l'organogenèse précoce induit un retard de croissance intra-utérin qui se manifeste par un faible poids à la naissance qui serait réversible. En effet, les animaux de petits poids à la naissance peuvent atteindre un poids normal à l'âge adulte. Le retard de croissance résulterait de la mort de cellules non remplacées et ce phénomène est considéré comme la marque d'une adaptation du fœtus à un stress vécu *in utero* (Seckl et Holmes, 2007 ; Sreetharan et coll., 2017). La plupart des études expérimentales chez l'animal (souris et rats) ont démontré que ce phénomène présentait un seuil de 0,5 Gy (Sikov et coll., 1969 ; Kimler et coll., 1988 ; Zhong et coll., 1996). Cependant, deux études, l'une sur la souris et l'autre sur le rat, ont rapporté des seuils de 50 mGy et 100-200 mGy, respectivement (Jensh et coll., 1986 ; Prakash Hande et coll., 1990).

On sait depuis longtemps que les individus porteurs de certaines mutations dans des gènes impliqués dans des processus cellulaires importants comme la réparation de l'ADN ou l'apoptose présentent davantage de risque de développer des cancers. Les travaux issus de l'expérimentation animale ont montré que les embryons porteurs de telles mutations étaient aussi plus susceptibles de développer diverses malformations suite à une irradiation durant la phase de l'organogenèse (Jacquet et coll., 2015). Ces données ont été obtenues avec des doses largement supérieures à celles rencontrées en médecine nucléaire, soit bien au-delà de 100 mGy. Il est clair que des études complémentaires sur les facteurs génétiques susceptibles d'accroître la radiosensibilité embryonnaire seraient souhaitables.

Phase du développement fœtal

Les conséquences d'une irradiation durant la phase du développement fœtal sont moins spectaculaires que celles induites pendant la période de l'organogénèse. Elles sont néanmoins bien présentes et concernent principalement des effets sur le système nerveux central et un retard de croissance.

Dans le modèle animal murin, les effets de l'irradiation sur le système nerveux central peuvent induire une diminution des facultés d'apprentissage et de mémorisation, une microcéphalie ainsi qu'une altération du comportement social. Une étude récente portant sur des fœtus de souris irradiés de manière unique à haut débit de dose au jour 11 de gestation avec des doses allant de 0,1 à 1 Gy a présenté des preuves concluantes d'effets persistants (jusqu'à 15 semaines) sur le système nerveux central et a permis de mieux comprendre la corrélation entre la taille du cerveau et la performance dans des tests de comportement. Dans cette étude, un changement dépendant de la dose a été observé pour l'activité dans la cage, le comportement social, l'exploration liée à l'anxiété et les performances spatio-cognitives. Bien que les modifications comportementales chez les animaux exposés à de faibles doses soient légères, l'étude a toutefois mis en évidence que l'émotivité et les capacités cognitives supérieures étaient affectées chez les souris exposées à des doses supérieures ou égales à 0,10 Gy. La microcéphalie était apparente à partir de 0,33 Gy et accompagnée de variations du volume de certaines régions du cerveau par comparaison aux témoins (Verreet et coll., 2016).

Les mécanismes moléculaires impliqués dans la réponse du cerveau en développement aux radiations ionisantes incluent l'activation de certains gènes dépendants de p53 nouvellement identifiés, et impliqués dans l'activation d'un programme de différenciation neuronale (Quintens et coll., 2015).

Le retard de croissance quant à lui, peut être global ou local suite à une altération du développement des tissus qui est très actif à ce stade. Contrairement à la période de l'organogénèse où le retard de croissance est réversible, il est permanent après une exposition pendant la phase du développement fœtal (Uma Devi, 1999).

Conclusion

De très nombreuses études ont rapporté que les radiations ionisantes peuvent induire des dommages aux cellules germinales mâles et femelles chez l'animal et l'Homme. La sévérité des dommages dépend non seulement de la dose reçue mais aussi du stade de maturation des cellules germinales au moment

de l'irradiation. Si les dommages à l'ADN ne peuvent être réparés par la cellule, ils peuvent avoir une conséquence sur la fertilité, la survenue de fausses couches, et éventuellement se transmettre aux générations suivantes dans le cas de dommages à l'ADN stables.

Les conséquences transgénérationnelles après exposition parentale aux radiations ont été bien démontrées chez la souris ; en revanche, les études sur les populations humaines restent encore controversées et non concluantes. Les principales raisons à cela sont les différences de doses, souvent plus faibles dans les études chez l'Homme que celles utilisées dans les études expérimentales chez l'animal, le type de radiations, le mode d'exposition ainsi que le temps séparant la conception de l'exposition qui est souvent très court dans les études expérimentales. À cela s'ajoute le manque de données en population humaine et de suivi approprié de grandes cohortes sur plusieurs générations. Ces limites méthodologiques pourraient expliquer le fait, qu'à ce jour, des effets transgénérationnels des radiations n'ont pu être mis en évidence avec certitude chez l'Homme. Cependant, un manque de preuves solides ne constitue pas la preuve d'une absence d'effets.

Quant à l'irradiation de l'embryon ou du fœtus *in utero*, il a été montré chez l'animal que les conséquences dépendaient non seulement de la dose mais du stade gestationnel au moment de l'irradiation. Ainsi, une irradiation pendant la phase pré-implantatoire induirait majoritairement la mort de l'embryon tandis qu'une irradiation au stade de l'organogénèse induirait des malformations congénitales. Enfin, une irradiation au moment du développement fœtal aurait pour conséquences des effets sur le système nerveux central et un retard de croissance.

RÉFÉRENCES

- Abrahamson S, Tawn EJ. Risk of stillbirth in offspring of men exposed to ionising radiation. *J Radiol Prot* 2001 ; 21 : 133-44.
- Adiga SK, Upadhy D, Kalthur G, *et al.* Transgenerational changes in somatic and germ line genetic integrity of first-generation offspring derived from the DNA damaged sperm. *Fertil Steril* 2010 ; 93 : 2486-90.
- Adriaens I, Smitz J, Jacquet P. The current knowledge on radiosensitivity of ovarian follicle development stages. *Hum Reprod Update* 2009 ; 15 : 359-77.
- Aghajanyan A, Suskov I. Transgenerational genomic instability in children of irradiated parents as a result of the Chernobyl nuclear accident. *Mutat Res* 2009 ; 671 : 52-7.

Aghajanyan A, Kuzmina N, Sipyagyna A, *et al.* Analysis of genomic instability in the offspring of fathers exposed to low doses of ionizing radiation. *Environ Mol Mutagen* 2011 ; 7 : 538-46.

Ahmadi A, Ng SC. Fertilizing ability of DNA-damaged spermatozoa. *J Exp Zool* 1999 ; 284 : 696-704.

Awa AA. Chromosome aberrations in a-bomb survivors, Hiroshima and Nagasaki. In : Obe G, Natarajan AT, eds. *Chromosomal aberrations basic and applied aspects*. Berlin, Heidelberg : Springer, 1987 : 180-190.

Baird DT, Mitchell A. Hormonal control of folliculogenesis: the key to successful reproduction. *E Schering Res Fdn W* 2002 ; 41 : 1-9.

Baker TG. Comparative aspects of the effects of radiation during oogenesis. *Mutat Res* 1971 ; 11 : 9-22.

Barber R, Plumb MA, Boulton E, *et al.* Elevated mutation rates in the germ line of first- and second-generation offspring of irradiated male mice. *Proc Natl Acad Sci USA* 2002 ; 99 : 6877-82.

Barber RC, Hickenbotham P, Hatch T, *et al.* Radiation-induced transgenerational alterations in genome stability and DNA damage. *Oncogene* 2006 ; 25 : 7336-42.

Baulch JE, Raabe OG, Wiley LM, *et al.* Germline drift in chimeric male mice possessing an F2 component with a paternal F0 radiation history. *Mutagenesis* 2002 ; 17 : 9-13.

Baulch JE, Raabe OG, Wiley LM. Heritable effects of paternal irradiation in mice on signaling protein kinase activities in F3 offspring. *Mutagenesis* 2001 ; 16 : 17-23.

Baulch JE, Raabe OG. Gamma irradiation of Type B spermatogonia leads to heritable genomic instability in four generations of mice. *Mutagenesis* 2005 ; 20 : 337-43.

Bianchi M. Cytotoxic insult to germinal tissue, part 2. The ovary. In : Potten CS, Hendry JH, eds. *Cytotoxic insult to tissue: effects on cell lineages*. Edinburgh, UK : Churchill-Livingstone, 1983 : 309-28.

Blumenfeld Z, Avivi I, Ritter M, *et al.* Preservation of fertility and ovarian function and minimizing chemotherapy-induced gonadotoxicity in young women. *J Soc Gynecol Invest* 1999 ; 6 : 229-39.

Bookhout CG. The development of the guinea pig ovary from sexual differentiation to maturity. *Anat Rec* 1946 ; 94 : 359.

Bouffler SD, Bridges BA, Cooper DN, *et al.* Assessing radiation-associated mutational risk to the germline: repetitive DNA sequences as mutational targets and biomarkers. *Radiat Res* 2006 ; 165 : 249-68.

Brewen JG, Payne HS. X-ray stage sensitivity of mouse oocytes and its bearing on dose-response curves. *Genetics* 1979 ; 91 : 149-61.

Brent RL. The indirect effect of irradiation on embryonic development. II. Irradiation of the placenta. *Am J Dis Child* 1960, 100 : 103-8.

Burkart W, Grosche B, Schoetzu A. Down syndrome clusters in Germany after the Chernobyl accident. *Radiat Res* 1997, 147 : 321-8.

Byrne J, Rasmussen SA, Steinhorn SC, *et al.* Genetic disease in offspring of long-term survivors of childhood and adolescent cancer. *Am J Hum Genet* 1998 ; 62 : 45-52.

Cahill DF, Yuile CL. Tritium: some effects of continuous exposure in utero on mammalian development. *Radiat Res* 1970 ; 44 : 727-37.

Cattanach BM, Patrick G, Papworth D, *et al.* Investigation of lung-tumor induction in Balb Cj mice following paternal X-irradiation. *Int J Radiat Biol* 1995 ; 67 : 607-15.

Cattanach BM, Papworth D, Patrick G, *et al.* Investigation of lung tumour induction in C3H/HeH mice, with and without tumour promotion with urethane, following paternal X-irradiation. *Mutat Res-Fund Mol M* 1998 ; 403 : 1-12.

Chow EJ, Kamineni A, Daling JR, *et al.* Reproductive outcomes in male childhood cancer survivors: a linked cancer-birth registry analysis. *Arch Pediatr Adolesc Med* 2009 ; 163 : 887-94.

Clermont Y. Kinetics of spermatogenesis in mammals: seminiferous epithelium cycle and spermatogonial renewal. *Physiol Rev* 1972 ; 52 : 198-236.

Coffigny H, Dutreix C, Pasquier C, *et al.* Radiosensibilité des cellules germinales foetales. *Trav Scient CRSSA* 1982 ; 3 : 116-8.

COMARE (Committee on Medical Aspects of Radiation in the Environment). *Eighth report. Review of pregnancy outcomes following preconceptional exposure to radiation.* 2004 : 83 p.

Cordelli E, Eleuteri P, Grollino MG, *et al.* Direct and delayed X-ray-induced DNA damage in male mouse germ cells. *Environ Mol Mutagen* 2012 ; 53 : 429-39.

Cosgrove GE, Selby PB, Upton AC, *et al.* Lifespan and autopsy findings in the first-generation offspring of X-irradiated male mice. *Mutat Res* 1993 ; 319 : 71-9.

Cox BD, Lyon MF. X-ray induced dominant lethal mutations in mature and immature oocytes of guinea-pigs and golden hamsters. *Mutat Res* 1975 ; 28 : 421-36.

Czeizel AE, Elek C, Susanszky E. The evaluation of the germinal mutagenic impact of Chernobyl radiological contamination in Hungary. *Mutagenesis* 1991 ; 6 : 285-8.

De Wals P, Bertrand F, de la Mata I, Lechat MF. Evaluation of the genetic impact of the Chernobyl accident: Analysis of the frequency of chromosomal anomalies in 19 EUROCAT registries from 1 January 1986 to 31 March 1987. *Acta Paediatr Lat* 1988 ; 41 (suppl 3) : 846-54.

Delic JI, Hendry JH, Morris ID, *et al.* Dose and time relationships in the endocrine response of the irradiated adult rat testis. *J Androl* 1986 ; 7 : 32-41.

Deanesly R. Follicle formation in guinea-pigs and rabbits. A comparative study with notes on the rete ovarii. *J Reprod Fertil* 1975 ; 45 : 371-4.

Derradji H, Bekaert S, De Meyer T, *et al.* Ionizing radiation-induced gene modulations, cytokine content changes and telomere shortening in mouse fetuses exhibiting forelimb defects. *Dev Biol* 2008 ; 322 : 302-13.

Devi PU, Baskar R. Influence of gestational age at exposure on the prenatal effects of gamma-radiation. *Int J Radiat Biol* 1996 ; 70 : 45-52.

Doyle P, Maconochie N, Roman E, *et al.* Fetal death and congenital malformation in babies born to nuclear industry employees: report from the nuclear industry family study. *Lancet* 2000 ; 356 : 1293-9.

Dubrova YE, Nesterov VN, Krouchinsky NG, *et al.* Human minisatellite mutation rate after the Chernobyl accident. *Nature* 1996 ; 380 : 683-6.

Dubrova YE, Nesterov VN, Krouchinsky NG, *et al.* Further evidence for elevated human minisatellite mutation rate in Belarus eight years after the Chernobyl accident. *Mutat Res-Fund Mol M* 1997 ; 381 : 267-78.

Dubrova YE, Plumb M, Brown J, *et al.* Stage specificity, dose response, and doubling dose for mouse minisatellite germ-line mutation induced by acute radiation. *Proc Natl Acad Sci USA* 1998a ; 95 : 6251-5.

Dubrova YE, Plumb M, Brown J, *et al.* Radiation-induced germline instability at minisatellite loci. *Int J Radiat Biol* 1998b ; 74 : 689-96.

Dubrova YE, Plumb M, Brown J, *et al.* Induction of minisatellite mutations in the mouse germline by low-dose chronic exposure to gamma-radiation and fission neutrons. *Mutat Res-Fund Mol M* 2000a ; 453 : 17-24.

Dubrova YE, Plumb M, Gutierrez B, *et al.* Transgenerational mutation by radiation. *Nature* 2000b ; 405 : 37.

Dubrova YE, Plumb MA, Jeffreys AJ. Induction of germline mutation at minisatellite loci by environmental factors. *Radiat Res (vol. 2, Congress proceedings)* 2000c ; 516-9.

Dubrova YE, Grant G, Chumak AA, *et al.* Elevated minisatellite mutation rate in the post-Chernobyl families from Ukraine. *Am J Hum Genet* 2002a ; 71 : 801-9.

Dubrova YE, Bersimbaev RI, Djansugurova LB, *et al.* Nuclear weapons tests and human germline mutation rate. *Science* 2002b ; 295 : 1037.

Dummer TJ, Dickinson HO, Pearce MS, *et al.* Stillbirth rates around the nuclear installation at Sellafield, North West England : 1950-1989. *Int J Epidemiol* 1998 ; 27 : 74-82.

Fan YJ, Wang Z, Sadamoto S, *et al.* Dose-response of a radiation induction of a germline mutation at a hypervariable mouse minisatellite locus. *Int J Radiat Biol* 1995 ; 68 : 177-83.

Filkowski JN, Ilnytskyy Y, Tamminga J, *et al.* Hypomethylation and genome instability in the germline of exposed parents and their progeny is associated with altered miRNA expression. *Carcinogenesis* 2010 ; 31 : 1110-5.

Furitsu K, Ryo H, Yeliseeva KG, *et al.* Microsatellite mutations show no increases in the children of the Chernobyl liquidators. *Mutat Res* 2005 ; 581 : 69-82.

Gardner MJ, Hall AJ, Downes S, *et al.* Follow up study of children born to mothers resident in Seascale, West Cumbria (birth cohort). *Br Med J (Clin Res Ed)* 1987a ; 295 : 822-7.

Gardner MJ, Hall AJ, Downes S, *et al.* Follow up study of children born elsewhere but attending schools in Seascale, West Cumbria (schools cohort). *Br Med J (Clin Res Ed)* 1987b ; 295 : 819-22.

Green DM. Fertility and pregnancy outcome after treatment for cancer in childhood or adolescence. *Oncologist* 1997 ; 2 : 171-9.

Green DM, Sklar CA, Boice JD Jr, *et al.* Ovarian failure and reproductive outcomes after childhood cancer treatment: results from the Childhood cancer survivor study. *J Clin Oncol* 2009 ; 27 : 2374-81.

Griffin CS, Tease C. Gamma-ray-induced numerical and structural chromosome-anomalies in mouse immature oocytes. *Mutat Res* 1988 ; 202 : 209-13.

Grinfeld S, Jacquet P. An unusual radiation-induced G2 arrest in the zygote of the BALB/c mouse strain. *Int J Radiat Biol Relat Stud Phys Chem Med* 1987 ; 51 : 353-63.

Gu Y, Kai M, Kusama T. The embryonic and fetal effects in ICR mice irradiated in the various stages of the preimplantation period. *Radiat Res* 1997 ; 147 : 735-40.

Hansmann I, Jenderny J, Probeck HD. Nondisjunction and chromosome breakage in mouse oocytes after various x-ray doses. *Hum Genet* 1982 ; 61 : 190-2.

Hoyes KP, Lord BI, Mccann C, *et al.* Transgenerational effects of preconception paternal contamination with (55)Fe. *Radiat Res* 2001 ; 156 : 488-94.

Inserm. *Analyse scientifique du rapport : « Les conséquences génétiques des essais nucléaires français dans le Pacifique, chez les petits-enfants des vétérans du Centre d'expérimentation du Pacifique et des habitants des Tuamotu Gambiers »*. Rapport, décembre 2018 : 69 p.

Jacobsen L. Low-dose embryonic X-irradiation in mice and some seasonal effects in the perinatal period. *Radiat Res* 1965 ; 25 : 611-25.

Jacquet P. Sensitivity of germ cells and embryos to ionizing radiation. *J Biol Regul Homeost Agents* 2004 ; 18 : 106-14.

Jacquet P, Grinfeld S. Influence of some methodological factors on the radiosensitivity of the mouse zygote. *Teratology* 1990 ; 42 : 453-62.

Jacquet P, Vankerkom J, Lambiet-Collier M. The female guinea pig, a useful model for the genetic hazard of radiation in man ; preliminary results on germ cell radiosensitivity in foetal and adult animals. *Int J Radiat Biol* 1994 ; 65 : 357-67.

Jacquet P, De Saint-George L, Vankerkom J, *et al.* A method for chromosome preparation of guinea pig oocytes. *Mutat Res* 1995a ; 334 : 309-16.

Jacquet P, De Saint-Georges L, Barrio S, *et al.* Morphological effects of caffeine, okadaic acid and genistein in one-cell mouse embryos blocked in G2 by X-irradiation. *Int J Radiat Biol* 1995b ; 67 : 347-58.

Jacquet P, De Saint-Georges L, Vankerkom J, *et al.* Embryonic death, dwarfism and fetal malformations after irradiation of embryos at the zygote stage: studies on two mouse strains. *Mutat Res* 1995c ; 332 : 73-87.

Jacquet P, De Saint-Georges L, Buset J, *et al.* Cytogenetic effects of X-rays in the guinea pig female germ cells. I. The immature oocyte. *Mutat Res* 1997a ; 391 : 189-92.

Jacquet P, De Saint-Georges L, Buset J, *et al.* Cytogenetic effects of X-rays in the guinea pig female germ cells. II. The maturing oocyte. *Mutat Res* 1997b ; 391 : 193-9.

Jacquet P, Buset J, Vankerkom J, *et al.* Radiation-induced chromosome aberrations in the guinea-pig growing oocytes and their relation to follicular atresia. *Mutat Res* 2001 ; 473 : 249-54.

Jacquet P, Adriaens I, Buset J, *et al.* Cytogenetic studies in mouse oocytes irradiated in vitro at different stages of maturation, by use of an early preantral follicle culture system. *Mutat Res* 2005 ; 583 : 168-77.

Jacquet P, Van Buul P, Van Duijn-Goedhart A, *et al.* Radiation sensitivity of the gastrula-stage embryo: Chromosome aberrations and mutation induction in lacZ transgenic mice: The roles of DNA double-strand break repair systems. *Mutat Res Genet Toxicol Environ Mutagen* 2015 ; 792 : 26-34.

Jensh RP, Brent RL, Vogel WH. Studies concerning the effects of low level prenatal X-irradiation on postnatal growth and adult behaviour in the Wistar rat. *Int J Radiat Biol Relat Stud Phys Chem Med* 1986 ; 50 : 1069-81.

Kallen B, Karlsson P, Lundell M, *et al.* Outcome of reproduction in women irradiated for skin hemangioma in infancy. *Radiat Res* 1998 ; 149 : 202-8.

Kamiguchi Y, Mikamo K. Dose-response relationship for induction of structural chromosome-aberrations in Chinese-hamster oocytes after X-irradiation. *Mutat Res* 1982 ; 103 : 33-7.

Kamstra JH, Hurem S, Martin LM, *et al.* Ionizing radiation induces transgenerational effects of DNA methylation in zebrafish. *Sci Rep* 2018 ; 8 : 15373.

Kimler BF, Norton S. Behavioral changes and structural defects in rats irradiated in utero. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 1988 ; 15 : 1171-7.

Kirk KM, Lyon MF. Induction of congenital-malformations in the offspring of male-mice treated with X-rays at pre-meiotic and post-meiotic stages. *Mutat Res* 1984 ; 125 : 75-85.

Kirk M, Lyon MF. Induction of congenital anomalies in offspring of female mice exposed to varying doses of X-rays. *Mutat Res* 1982 ; 106 : 73-83.

Kirkpatrick JF. Radiation induced abnormalities in early in vitro mouse embryos. *Anat Rec* 1973 ; 176 : 397-403.

Kiuru A, Auvinen A, Luukkamaki M, *et al.* Hereditary minisatellite mutations among the offspring of Estonian Chernobyl cleanup workers. *Radiat Res* 2003 ; 159 : 651-5.

Kodaira M, Satoh C, Hiyama K, *et al.* Lack of effects of atomic bomb radiation on genetic instability of tandem-repetitive elements in human germ cells. *Am J Hum Genet* 1995 ; 57 : 1275-83.

Kodaira M, Izumi S, Takahashi N, *et al.* No evidence of radiation effect on mutation rates at hypervariable minisatellite loci in the germ cells of atomic bomb survivors. *Radiat Res* 2004 ; 162 : 350-6.

Kohn HL. The effect of paternal X-ray exposure on the secondary sex ratio in mice (F(1) generation). *Genetics* 1960 ; 45 : 771-8.

Kohn HI, Epling ML, Guttman PH, Bailey DW. Effect of paternal (spermatogonial) X-ray exposure in the mouse: life span, X-ray tolerance, and tumor incidence of the progeny. *Radiat Res* 1965 ; 25 : 423-44.

Koturbash I, Rugo RE, Hendricks CA, *et al.* Irradiation induces DNA damage and modulates epigenetic effectors in distant bystander tissue in vivo. *Oncogene* 2006 ; 25 : 4267-75.

Little J. The Chernobyl accident, congenital anomalies and other reproductive outcomes. *Paediatr Perinat Epidemiol* 1993 ; 7 : 121-51.

Little MP, Muirhead CR, Charles MW. Describing time and age variations in the risk of radiation-induced solid tumour incidence in the Japanese atomic bomb survivors using generalized relative and absolute risk models. *Stat Med* 1999 ; 18 : 17-33.

Livshits LA, Malyarchuk SG, Kravchenko SA, *et al.* Children of Chernobyl cleanup workers do not show elevated rates of mutations in minisatellite alleles. *Radiat Res* 2001 ; 155 : 74-80.

Lord BI, Woolford LB, Wang L, *et al.* Induction of lympho-haemopoietic malignancy: impact of preconception paternal irradiation. *Int J Radiat Biol* 1998 ; 74 : 721-8.

Lushbaugh CC, Casarett GW. Effects of gonadal irradiation in clinical radiation-therapy. *Cancer* 1976 ; 37 : 1111-20.

Lyon MF, Renshaw R. Induction of congenital malformation in mice by parental irradiation: transmission to later generations. *Mutat Res* 1988 ; 198 : 277-83.

Marjault HB, Allemand I. Consequences of irradiation on adult spermatogenesis: Between infertility and hereditary risk. *Mutat Res* 2016 ; 770 : 340-8.

May CA, Tamaki K, Neumann R, *et al.* Minisatellite mutation frequency in human sperm following radiotherapy. *Mutat Res-Fund Mol M* 2000 ; 453 : 67-75.

Meirow D, Nugent D. The effects of radiotherapy and chemotherapy on female reproduction. *Hum Reprod Update* 2001 ; 7 : 535-43.

Mikamo K. Meiotic Chromosomal radiosensitivity in primary oocytes of the Chinese-hamster. *Cytogenet Cell Genet* 1982 ; 33 : 88-94.

Moreno SG, Dutrillaux B, Coffigny H. High sensitivity of rat foetal germ cells to low dose-rate irradiation. *Int J Radiat Biol* 2001 ; 77 : 529-38.

Morgan WF. Non-targeted and delayed effects of exposure to ionizing radiation: II. Radiation-induced genomic instability and bystander effects in vivo, clastogenic factors and transgenerational effects. *Radiat Res* 2003 ; 159 : 581-96.

Morita Y, Tilly JL. Oocyte apoptosis: like sand through an hourglass. *Dev Biol* 1999 ; 213 : 1-17.

Morita Y, Perez GI, Maravei DV, *et al.* Targeted expression of Bcl-2 in mouse oocytes inhibits ovarian follicle atresia and prevents spontaneous and chemotherapy-induced oocyte apoptosis in vitro. *Mol Endocrinol* 1999 ; 13 : 841-50.

Morita Y, Perez GI, Paris F, *et al.* Oocyte apoptosis is suppressed by disruption of the acid sphingomyelinase gene or by sphingosine-1-phosphate therapy. *Nat Med* 2000 ; 6 : 1109-14.

Mughal SK, Myazin AE, Zhavoronkov LP, *et al.* The dose and dose-rate effects of paternal irradiation on transgenerational instability in mice: a radiotherapy connection. *PLoS One* 2012 ; 7 : e41300.

Müller WU, Streffer C. Lethal and teratogenic effects after exposure to X-rays at various times of early murine gestation. *Teratology* 1990 ; 42 : 643-50.

Müller WU, Schotten H. Induction of malformations by X-ray exposure of various stages of the oogenesis of mice. *Mutat Res* 1995 ; 331 : 119-25.

Neel JV. Reappraisal of studies concerning the genetic effects of the radiation of humans, mice, and *Drosophila*. *Environ Mol Mutagen* 1998 ; 31 : 4-10.

Neel JV, Schull WJ. Analysis of the sex ratio data. In : Neel JV, Schull WJ, eds. *The effect of exposure to the atomic bombs on pregnancy termination in Hiroshima and Nagasaki*. Washington (DC) : National Academies Press (US), 1956.

Neel JV, Satoh C, Hamilton HB, *et al.* Search for mutations affecting protein structure in children of atomic bomb survivors: preliminary report. *Proc Natl Acad Sci (USA)* 1980 ; 77 : 4221-5.

Neel JV, Schull WJ, Awa AA, *et al.* The children of parents exposed to atomic bombs: estimates of the genetic doubling dose of radiation for humans. *Am J Hum Genet* 1991 ; 46 : 1053-72.

Nomura T. Letter : Transmission of tumors and malformations to the next generation of mice subsequent to urethan treatment. *Cancer Res* 1975 ; 35 : 264-6.

Nomura T. Changed urethan and radiation response of the mouse germ cell to tumor induction. In : Severi L, ed. *Tumors of early life in man and animals*. Perugia : Perugia University Press, 1978 : 873-91.

Nomura T. Parental exposure to X rays and chemicals induces heritable tumours and anomalies in mice. *Nature* 1982 ; 296 : 575-7.

Nomura T. X-ray-induced germ-line mutation leading to tumors. Its manifestation in mice given urethane post-natally. *Mutat Res* 1983 ; 121 : 59-65.

Nomura T. Further studies on X-ray and chemically induced germ-line alterations causing tumors and malformations in mice. In : Ramel C, ed. *Genetic toxicology of environmental chemicals. Part B: Genetic effects and applied mutagenesis*. New York : Alan R. Liss, 1986 : 13-20.

Nomura T. X-ray-induced and chemically-induced germ-line mutation causing phenotypical anomalies in mice. *Mutat Res* 1988 ; 198 : 309-20.

Nomura T. Transgenerational carcinogenesis: induction and transmission of genetic alterations and mechanisms of carcinogenesis. *Mutat Res* 2003 ; 544 : 425-32.

Oakberg EF, Clark E. Effect of dose and dose rate on radiation damage to mouse spermatogonia and oocytes as measured by cell survival. *J Cell Comp Physiol* 1961 ; 58 : 173-82.

Obasaju MF, Wiley LM, Oudiz DJ, *et al.* A chimera embryo assay reveals a decrease in embryonic cellular proliferation induced by sperm from X-irradiated male mice. *Radiat Res* 1989 ; 118 : 246-56.

Ohzu E. Effects of low-dose x-irradiation on early mouse embryos. *Radiat Res* 1965 ; 26 : 107-13.

Otake M, Schull WJ, Neel JV. Congenital malformations, stillbirths, and early mortality among the children of atomic bomb survivors : a reanalysis. *Radiat Res* 1990 ; 122 : 1-11.

Pampfer S, Streffer C. Prenatal death and malformations after irradiation of mouse zygotes with neutrons or X-rays. *Teratology* 1988 ; 37 : 599-607.

Paris L, Cordelli E, Eleuteri P, *et al.* Kinetics of gamma-H2AX induction and removal in bone marrow and testicular cells of mice after X-ray irradiation. *Mutagenesis* 2011 ; 26 : 563-72.

Parker L, Pearce MS, Dickinson HO, *et al.* Stillbirths among offspring of male radiation workers at Sellafield nuclear reprocessing plant. *Lancet* 1999 ; 354 : 1407-14.

Pineau C, Velez De La Calle JF, Pinon-Lataillade G, *et al.* Assessment of testicular function after acute and chronic irradiation: further evidence for an influence of late spermatids on Sertoli cell function in the adult rat. *Endocrinology* 1989 ; 124 : 2720-8.

Prakash Hande M, Ume Devi P, Jagetia GC. Effect of "in utero" exposure to low doses of low energy X-rays on the postnatal development of mouse. *J Radiat Res* 1990 ; 31 : 354-60.

Quintens R, Verreut T, Janssen A, *et al.* Identification of novel radiation-induced p53-dependent transcripts extensively regulated during mouse brain development. *Biol Open* 2015 ; 4 : 331-44.

Reichert W, Hansmann I, Rohrborn G. Chromosome anomalies in mouse oocytes after irradiation. *Humangenetik* 1975 ; 28 : 25-38.

Reichert W, Buselmaier W, Vogel F. Elimination of X-ray-induced chromosomal aberrations in the progeny of female mice. *Mutat Res* 1984 ; 139 : 87-94.

Ried HL, Jaffe N. Radiation-induced changes in long-term survivors of childhood-cancer after treatment with radiation-therapy. *Semin Roentgenol* 1994 ; 29 : 6-14.

Rowley MJ, Leach DR, Warner GA, *et al.* Effect of graded doses of ionizing radiation on the human testis. *Radiat Res* 1974 ; 59 : 665-78.

Rugh R. Embryonic and fetal effects of X-irradiation. *Trans N Engl Obstet Gynecol Soc* 1959 ; 13 : 15-25.

Russell LB, Russell WL. An analysis of the changing radiation response of the developing mouse embryo. *J Cell Physiol* 1954 ; 43 (suppl) : 103-49.

Russell LB, Montgomery CS. Radiation-sensitivity differences within cell-division cycles during mouse cleavage. *Int J Radiat Biol Relat Stud Phys Chem Med* 1966 ; 10 : 151-64.

Russell WL, Kelly EM. Specific-locus mutation frequencies in mouse stem-cell spermatogonia at very low radiation dose rates. *Proc Natl Acad Sci USA* 1982 ; 79 : 539-41.

Rutledge JC, Generoso WM, Shourbaji A, *et al.* Developmental anomalies derived from exposure of zygotes and first-cleavage embryos to mutagens. *Mutat Res* 1992 ; 296 : 167-77.

Ryo H, Nakajima H, Nomura T. Germ-line mutations at a mouse ESTR (Pc-3) locus and human microsatellite loci. *J Radiat Res* 2006 ; 47 (suppl B) : B31-7.

Satoh C, Kodaira M. Effects of radiation on children. *Nature* 1996 ; 383 : 226.

Satoh C, Takahashi N, Asakawa J, *et al.* Genetic analysis of children of atomic bomb survivors. *Environ Health Perspect* 1996 ; 104 (suppl 3) : 511-9.

Schull WJ, Neel JV. Radiation and the sex ratio in man. *Science* 1958 ; 128 : 343-8.

Searle AG, Beechey CV. Cytogenetic effects of X-rays and fission neutrons in female mice. *Mutat Res* 1974 ; 24 : 171-86.

Seckl JR, Holmes MC. Mechanisms of disease: glucocorticoids, their placental metabolism and fetal "programming" of adult pathophysiology. *Nat Clin Pract Endocrinol Metab* 2007 ; 3 : 479-88.

Selby PB, Lee SS, Kelly EM, *et al.* Specific-locus experiments show that female mice exposed near the time of birth to low-LET ionizing radiation exhibit both a low mutational response and a dose-rate effect. *Mutat Res* 1991 ; 249 : 351-67.

Semagin VN. Remote changes in the higher nervous activity of rats repeatedly exposed to radiation during the antenatal period. *J Radiobiologia* 1964 ; 119 : 911-5.

Sever LE, Hessol NA, Gilbert ES, McIntyre JM. The prevalence at birth of congenital malformations in communities near the Hanford site. *Am J Epidemiol* 1988a ; 127 : 243-54.

Sever LE, Gilbert ES, Hessol NA, McIntyre JM. A case-control study of congenital malformations and occupational exposure to low-level ionizing radiation. *Am J Epidemiol* 1988b ; 127 : 226-42.

Signorello LB, Mulvihill JJ, Green DM, *et al.* Stillbirth and neonatal death in relation to radiation exposure before conception: a retrospective cohort study. *Lancet* 2010 ; 376 : 624-30.

Signorello LB, Mulvihill JJ, Green DM, *et al.* Congenital anomalies in the children of cancer survivors: a report from the childhood cancer survivor study. *J Clin Oncol* 2012 ; 30 : 239-45.

Sikov MR, Resta CF, Lofstrom JE. The effects of prenatal X-irradiation of the rat on postnatal growth and mortality. *Radiat Res* 1969 ; 40 : 133-48.

Simon B, Lee SJ, Partridge AH, *et al.* Preserving fertility after cancer. *Ca-Cancer J Clin* 2005 ; 55 : 211-28.

Slebos RJ, Little RE, Umbach DM, *et al.* Mini-and microsatellite mutations in children from Chernobyl accident cleanup workers. *Mutat Res* 2004 ; 559 : 143-51.

Slovinska L, Elbertova A, Misurova E. Transmission of genome damage from irradiated male rats to their progeny. *Mutat Res* 2004 ; 559 : 29-37.

Somers CM, Sharma R, Quinn JS, *et al.* Gamma radiation-induced heritable mutations at repetitive DNA loci in out-bred mice. *Mutat Res* 2004 ; 568 : 69-78.

Speiser B, Rubin P, Casarett G. Aspermia following lower truncal irradiation in Hodgkin's disease. *Cancer* 1973 ; 32 : 692-8.

Sperling K, Pelz J, Wegner RD, *et al.* Significant increase in trisomy 21 in Berlin nine months after the Chernobyl reactor accident: temporal correlation or causal relation? *BMJ* 1994 ; 309 : 158-62.

Sperling K, Neitzel H, Scherb H. Evidence for an increase in trisomy 21 (Down syndrome) in Europe after the Chernobyl reactor accident. *Genet Epidemiol* 2012 ; 36 : 48-55.

Sreetharan S, Thome C, Tharmalingam S, *et al.* Ionizing radiation exposure during pregnancy: effects on postnatal development and life. *Radiat Res* 2017 ; 187 : 647-58.

Sueur C. *Les Conséquences génétiques des essais nucléaires français dans le Pacifique, chez les petits-enfants des vétérans du Centre d'Expérimentation du Pacifique et des habitants des Tuamotu Gambiers.* Rapport, janvier 2018 : 115 p.

Tamminga J, Koturbash I, Baker M, *et al.* Paternal cranial irradiation induces distant bystander DNA damage in the germline and leads to epigenetic alterations in the offspring. *Cell Cycle* 2008 ; 7 : 1238-45.

Tateno H, Mikamo K. Neonatal oocyte development and selective oocyte-killing by X-rays in the Chinese hamster, *Cricetulus griseus*. *Int J Radiat Biol Relat Stud Phys Chem Med* 1984 ; 45 : 139-49.

Tateno H, Mikamo K. Effects of neonatal ovarian X-irradiation in the Chinese-hamster. 1. Correlation between the age of irradiation and the fertility span. *J Radiat Res* 1989 ; 30 : 185-90.

Tawn EJ, Whitehouse CA, Winther JF, *et al.* Chromosome analysis in childhood cancer survivors and their offspring – no evidence for radiotherapy-induced persistent genomic instability. *Mutat Res* 2005 ; 583 : 198-206.

Tawn EJ, Rees GS, Leith C, *et al.* Germline minisatellite mutations in survivors of childhood and young adult cancer treated with radiation. *Int J Radiat Biol* 2011 ; 87 : 330-40.

Tease C, Fisher G. X-ray-induced chromosome aberrations in immediately preovulatory oocytes. *Mutat Res* 1986 ; 173 : 211-5.

Tease C, Fisher G. Cytogenetic and genetic studies of radiation-induced chromosome damage in mouse oocytes. I. Numerical and structural chromosome anomalies in metaphase II oocytes, pre- and post-implantation embryos. *Mutat Res* 1996 ; 349 : 145-53.

Tindall DJ, Vitale R, Means AR. Androgen binding protein as a biochemical marker of formation of the blood-testis barrier. *Endocrinology* 1975 ; 97 : 636-48.

Ullrich RL. Effects of split doses of X rays or neutrons on lung tumor formation in RFM mice. *Radiat Res* 1980 ; 83 : 138-45.

Uma Devi P. Comments on the paper "Adaptive response in embryogenesis" by Wang *et al.*, *Radiat. Res.* 150, 120-122 (1998). *Radiat Res* 1999 ; 151 : 121.

UNSCEAR. *Genetic and somatic effects of ionizing radiation. United Nations scientific committee on the effects of atomic radiation. Unscear 1986 Report.* Report to the General assembly, with annexes. United Nations, New York, 1986.

UNSCEAR. *Hereditary effects of radiation. United Nations scientific committee on the effects of atomic radiation. Unscear 2001 Report.* Report to the General assembly, with scientific annex. United Nations, New York, 2001.

van Beek ME, Davids JA, de Rooij DG. Variation in the sensitivity of the mouse spermatogonial stem cell population to fission neutron irradiation during the cycle of the seminiferous epithelium. *Radiat Res* 1986 ; 108 : 282-95.

Van Der Meer Y, Huiskamp R, Davids JA, *et al.* The sensitivity to X rays of mouse spermatogonia that are committed to differentiate and of differentiating spermatogonia. *Radiat Res* 1992 ; 130 : 296-302.

Vance MM, Wiley LM. Gap junction intercellular communication mediates the competitive cell proliferation disadvantage of irradiated mouse preimplantation embryos in aggregation chimeras. *Radiat Res* 1999 ; 152 : 544-51.

Verreet T, Rangarajan JR, Quintens R, *et al.* Persistent impact of in utero irradiation on mouse brain structure and function characterized by MR imaging and behavioral analysis. *Front Behav Neurosci* 2016 ; 10 : 83.

Vilarino-Güell C, Smith AG, Dubrova YE. Germline mutation induction at mouse repeat DNA loci by chemical mutagens. *Mutat Res* 2003 ; 526 : 63-73.

Vorobtsova IE, Kitaev EM. Urethane-induced lung adenomas in the first-generation progeny of irradiated male mice. *Carcinogenesis* 1988 ; 9 : 1931-4.

Vorobtsova IE, Aliyakparova LM, Anisimov VN. Promotion of skin tumors by 12-O-tetradecanoylphorbol-13-acetate in two generations of descendants of male mice exposed to X-ray irradiation. *Mutat Res* 1993 ; 287 : 207-16.

Wallace WHB, Shalet SM, Hendry JH, *et al.* Ovarian failure following abdominal irradiation in childhood – the radiosensitivity of the human oocyte. *Br J Radiol* 1989 ; 62 : 995-8.

Wallace WHB, Thomson AB, Kelsey TW. The radiosensitivity of the human oocyte. *Hum Reprod* 2003 ; 18 : 117-21.

Wallace WHB, Thomson AB, Saran F, *et al.* Predicting age of ovarian failure after radiation to a field that includes the ovaries. *Int J Radiat Oncol* 2005 ; 62 : 738-44.

Warner P, Wiley LM, Oudiz DJ, *et al.* Paternally inherited effects of gamma radiation on mouse preimplantation development detected by the chimera assay. *Radiat Res* 1991 ; 128 : 48-58.

Waxman J. Chemotherapy and the adult gonad – a review. *J Roy Soc Med* 1983 ; 76 : 144-8.

Weissenborn U, Streffer C. Analysis of structural and numerical chromosomal anomalies at the first, second, and third mitosis after irradiation of one-cell mouse embryos with X-rays or neutrons. *Int J Radiat Biol* 1988 ; 54 : 381-94.

WHO (World Health Organization). *Health effects of the Chernobyl accident and special health care programmes. Report of the UN Chernobyl forum expert group "Health"*. Geneva : World Health Organization, 2006.

Wiley LM, Baulch JE, Raabe OG, *et al.* Impaired cell proliferation in mice that persists across at least two generations after paternal irradiation. *Radiat Res* 1997 ; 148 : 145-51.

Winther JF, Boice JD, Jr., Thomsen BL, *et al.* Sex ratio among offspring of childhood cancer survivors treated with radiotherapy. *Br J Cancer* 2003 ; 88 : 382-7.

Winther JF, Boice JD Jr, Svendsen AL, *et al.* Spontaneous abortion in a Danish population-based cohort of childhood cancer survivors. *J Clin Oncol* 2008 ; 26 : 4340-6.

Winther JF, Boice JD, Jr., Frederiksen K, *et al.* Radiotherapy for childhood cancer and risk for congenital malformations in offspring: a population-based cohort study. *Clin Genet* 2009 ; 75 : 50-6.

Yamada T, Yukawa O, Matsuda Y, *et al.* Changes in radiosensitivity of the in vitro fertilized mouse ova during zygotic stage from fertilization to first cleavage. *J Radiat Res* 1982 ; 23 : 450-6.

Zheng H, Olive PL. Influence of oxygen on radiation-induced DNA damage in testicular cells of C3H mice. *Int J Radiat Biol* 1997 ; 71 : 275-82.

Zhong DZ, Pei C, Xiu-Qin L. Neurobehavioral study of prenatal exposure to hyperthermia combined with irradiation in mice. *Neurotoxicol Teratol* 1996 ; 18 : 703-9.