

## Gynécologie

# Distilbène : deuxième et troisième générations

**RÉSUMÉ :** Le Distilbène, ou DES, fut prescrit à plusieurs millions de femmes enceintes (génération 1) dans le monde dès la fin des années 1940 et pendant 30 ans, dont environ 200 000 femmes en France, jusqu'à son interdiction en 1977.

Les conséquences de l'exposition *in utero* au DES ont été dominées, outre la crainte de survenue rare et dramatique d'adénocarcinome à cellules claires (ACC), par les drames de l'infertilité et des accidents obstétricaux pour les femmes exposées de la génération 2, eux-mêmes générateurs d'une fréquence de pathologies du développement psychomoteur liées à la prématurité dans la génération 3. Les études récentes sont en faveur d'un risque accru de développer un cancer du sein chez les femmes exposées *in utero* au DES, conduisant à appliquer les recommandations de dépistage identiques à celles des femmes de familles comptant un cas de cancer du sein parmi leurs membres proches.

Les résultats des études concordent et confirment une transmission transgénérationnelle à la 3<sup>e</sup> génération de malformations congénitales du tractus génital masculin. Avec prudence en raison des biais possibles associés aux études rétrospectives et/ou par questionnaires, les données suggèrent une augmentation des anomalies œsophagiennes, fentes labiale ou palatine, troubles musculo-squelettiques et cardiaques.

Un point encourageant est l'absence d'augmentation significative, pour les filles de la 3<sup>e</sup> génération, de malformations ou de cancers génitaux qui ont touché la génération exposée, mais il est encore difficile de conclure définitivement.



**S. EPELBOIN<sup>1</sup>, E. DEVOUCHE<sup>2</sup>, M. TOURNAIRE<sup>3</sup>**

<sup>1</sup>Service de Gynécologie-Obstétrique, Assistance Médicale à la Procréation, Hôpitaux Universitaires Paris Nord Val de Seine, site Bichat-Claude Bernard, PARIS.

<sup>2</sup>Unité de recherches 4057, Université Paris-Descartes, PARIS.

<sup>3</sup>APHP Université Paris-Descartes, PARIS.

L'histoire de l'exposition au diéthylstilbestrol, communément appelé DES, est celle d'un espoir gigantesque proposé aux femmes en réponse au malheur qu'ont de tout temps représenté les fausses couches, avant d'être celle d'une tout aussi gigantesque erreur médicale, de l'inertie des pouvoirs publics face à l'alerte des premières complications décrites et de la prise de conscience tardive des effets indésirables par le corps médical.

DES est la dénomination commune internationale du diéthylstilbestrol, découvert en 1938 par le chimiste anglais Charles Dodds, développé pour ses propriétés d'imitation de l'action des estrogènes naturels, commercialisé sous les noms de spécialités Distilbène et Stilboestrol-Borne [1]. Il fut prescrit chez les femmes enceintes aux États-Unis, puis dans divers pays, dont la France

entre 1948 et 1977, notamment pour les menaces d'avortements spontanés et les hémorragies gravidiques, mais bien souvent aussi de façon préventive dans de multiples situations sans indication avérée. Le DES est alors considéré comme une "pilule miracle" (fig. 1).

Le travail de Dieckmann, mené à Chicago, paru en 1953, étude randomisée en double aveugle remarquable pour l'époque, comparait le suivi de 840 femmes enceintes traitées par DES et 806 traitées par placebo, en concluant à une absence de différence significative entre les deux groupes concernant les avortements spontanés, la prééclampsie, la prématurité, la post-maturité ou la mortalité périnatale [2]. L'histoire aurait pu s'arrêter là. Néanmoins, ces conclusions n'ont pas influé sur les habitudes thérapeutiques. En France, les prescriptions débutées en 1948 progressent pour

# Gynécologie



Fig. 1 : Exemple de publicité vantant les multiples propriétés du DES (*Am J Obstet Gynecol*, 1957, disponible sur Google images).

atteindre un pic en 1971. C'est aussi l'année où furent décrits par Herbst les premiers cas d'adénocarcinome à cellules claires (ACC) du vagin et du col chez de toutes jeunes filles et leur lien avec la prise maternelle de DES [3]. La *Food and Drug Administration* (FDA) interdit aux États-Unis l'usage obstétrical du DES, un registre des ACC est mis en place en 1971. La **figure 2** rend compte du décalage des prescriptions entre États-Unis et France dans un contexte de vogue de l'hormonologie croissante, de pression de l'industrie pharmaceutique et d'absence d'autorités sanitaires régulant le médicament. Alors que le pic des prescriptions américaines se situe entre 1948 et 1958, le pic français a lieu entre 1962 et 1972, avec arrêt en 1977 [3].

La France est en outre un des pays où l'interdiction du DES a été la plus tardive (6 ans après les États-Unis). Il faudra attendre 1976 pour que l'indication du Distilbène dans les avortements spontanés et à répétition soit supprimée, et 1977 pour que le dictionnaire Vidal, devenu la référence française officielle en matière d'information sur les médicaments, mentionne qu'il était contre-indiqué chez la femme enceinte.

Les complications obstétricales de la génération exposée ont été décrites dans la littérature médicale à partir de 1977.

Jamais breveté, le DES fut commercialisé par différentes entreprises sous plus de 200 noms, avec différentes formules de fabrication, et fut donc peu coûteux à produire. Il a été prescrit à plusieurs millions de femmes enceintes, exposant ainsi leur enfant durant la vie intra-utérine, sans que leur nombre exact ne soit connu. Dans de nombreux pays, la première action du gouvernement et du monde médical fut "de ne pas alarmer le public" et de rejeter l'exposition au DES comme un phénomène qui "ne s'était pas produit ici". En France, le composé a été prescrit à environ 200 000 femmes, le nombre d'enfants exposés étant le plus important après les États-Unis (vraisemblablement plus de 4 millions de grossesses traitées) et les Pays-Bas (220 000 femmes traitées) [3]. Les personnes de la génération exposée ont, en France, en 2017, un âge compris entre 40 et 67 ans.

Des travaux récents indiquent que les conséquences de l'exposition *in utero* au DES restent d'actualité, tant pour la génération traitée (1) que pour la génération exposée (2) et issue de celle-ci (3), confirmant l'hypothèse d'effets trans-

générationnels. Actuellement, seule une partie du corps médical garde en mémoire les conséquences de l'exposition *in utero* au DES, avec la conviction que c'est chapitre clos, comme les générations médicales précédentes furent majoritairement dans le déni. La synthèse des travaux passés et actuels sur les générations 2 et 3 a pour but de relancer connaissance et intérêt concernant les modalités de dépistage et de prise en charge des complications des générations concernées, et de donner matière à une réflexion plus générale, tant sur les effets possiblement transgénérationnels des médicaments prescrits aux femmes enceintes que sur l'éternelle dichotomie entre conviction intime et évaluation en médecine.

## La deuxième génération

Certains des effets délétères du DES sur la santé de l'enfant exposé *in utero* (génération 2) sont précisément caractérisés, notamment pour ce qui concerne le risque d'adénocarcinome à cellules claires cervico-vaginal chez les filles, les anomalies de forme et de taille de l'utérus à l'origine des troubles de la fertilité et des accidents obstétricaux des filles exposées, qui se sont évidemment raréfiés ces dernières années, les dernières

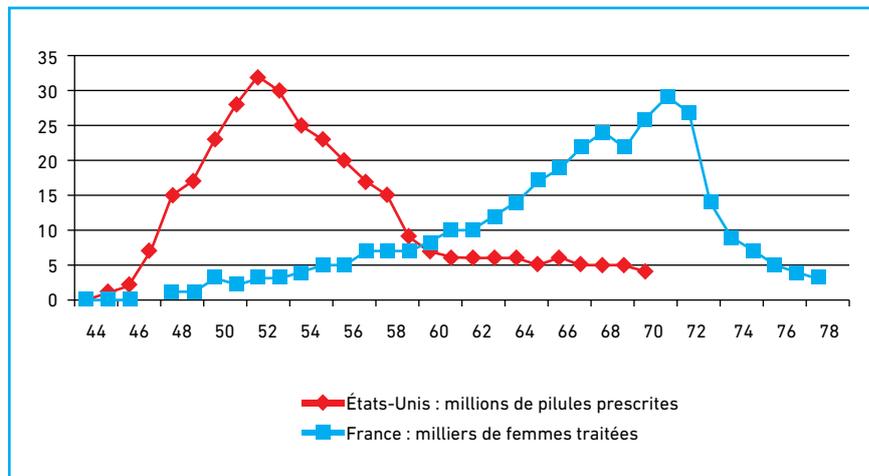


Fig. 2 : Années de prescription obstétricale du diéthylstilbestrol aux États-Unis (en millions de pilules prescrites) et en France (en milliers de femmes traitées) [10]

exposées dépassant la quarantaine en 2017. Plus récemment ont été démontrés des effets de l'exposition sur la santé des femmes, notamment l'augmentation de la survenue de cancers du sein. Les conséquences chez les garçons exposés sont moins documentées.

## 1. Les filles de la génération 2

### >>> ACC du col de l'utérus et du vagin

À partir de 1971, date de la publication de Herbst *et al.* [4] mettant en cause le DES dans la survenue des ACC, la recherche expérimentale a cherché à interpréter la survenue des ACC (et des malformations). Certains travaux démontrent, chez la souris et le singe, la survenue d'anomalies de la différenciation cervico-vaginale, adénose et anomalies de structure du tractus génital comparables à celles observées chez la femme, et ont mis l'accent sur la survenue de cancers cervico-vaginaux et utérins chez la souris et le rat [5].

Chez les femmes exposées, le risque habituellement annoncé est de 1/1 000. Cependant, avec l'avancée de l'âge, ce risque est revu à la hausse. En 2007, aux États-Unis, il était de 1/625. En France, l'institut Gustave Roussy de Villejuif a traité 36 ACC associés à l'exposition au DES entre 1999 et 2010. Avec le nombre de 80 000 filles exposées, on peut estimer le nombre d'ACC à 100 à 130 dans notre pays. Le pic de survenue des ACC se situe à 14-27 ans, avec un âge moyen de 24 ans pour les filles DES. Leur survenue est rare dans la trentaine mais augmente après 40 ans [6]. La vigilance reste donc de mise devant cet accroissement tardif, et ce d'autant plus que, dans le cas des ACC non associés à l'exposition au DES, la répartition est bipolaire avec un groupe de femmes jeunes de 17 à 37 ans (moyenne 26 ans) et un groupe plus âgé de 44 à 88 ans (moyenne 71 ans).

Parmi les autres lésions du col à signaler, l'adénose (ou ectopie cervico-vaginale de la muqueuse cylindrique), observée

chez environ 30 à 60 % des femmes, est de guérison généralement spontanée. La lésion d'adénose est néanmoins susceptible de saigner ou de s'infecter. Le risque de néoplasies cervicales intra-épithéliales de grade > 2 (CIN2+) est multiplié par 2,28 (IC 95 % : 1,59-3,27) [7]. Pour l'ensemble de ces risques, la réalisation annuelle d'un frottis de dépistage est recommandée sur le long terme. Par ailleurs, des anomalies structurales du col et du vagin peuvent être observées chez 20 à 60 % des femmes exposées, la plus fréquente étant l'hypoplasie du col utérin (diminution du relief du col, aspect en cimier de casque).

### >>> Les conséquences sur la reproduction féminine

Bien que les effets de l'exposition au DES *in utero* appartiennent quasiment au passé et ne concernent plus que quelques femmes de la quarantaine ayant un projet tardif, les troubles de la fertilité et les issues de grossesse défavorables ont tant marqué une génération entière qu'il est important de les rappeler. Les anomalies anatomiques de l'utérus, premières à être décrites par Kaufman en 1977 [8], se sont manifestées dans les échecs de reproduction comme dans les accidents obstétricaux. Le risque d'atteinte de l'appareil génital était essentiellement fonction de la précocité du traitement plus que de sa durée ou des doses prescrites, la période à risque majeur en cas d'exposition *in utero* au DES étant située entre la 6<sup>e</sup> et la 17<sup>e</sup> semaine d'aménorrhée (SA).

On distingue les anomalies de taille et de forme, par ordre de fréquence une forme en "T" de l'utérus (horizontalisation des cornes), l'hypoplasie utérine et le rétrécissement sus-isthmique, déterminant une partie de cavité "utile" réduite, des aspects dilatés des cornes, d'irrégularité des bords, des aspects pseudo-bicornes, voire des malformations plus complexes.

Les anomalies fonctionnelles (résistances vasculaires élevées, anomalies de

la croissance endométriale nécessaire à une bonne implantation embryonnaire) ont participé aux problèmes de fertilité. L'adénose cervicale avait pour conséquences des anomalies quantitatives ou qualitatives de la glaire cervicale pré-ovulatoire, créant une vraie infertilité cervicale.

Plusieurs études ont également évoqué divers troubles de l'ovulation, une fréquence accrue d'insuffisance de réserve ovarienne précoce, d'endométriose [9, 10].

Sur le plan obstétrical, en 1981, Herbst détaille les accidents de la grossesse dans une population de femmes exposées au DES *in utero* et suivies à Boston [11]. L'information des professionnels, puis du public français, surviendra (avec retardement) grâce à la publication en 1982 de Cabau [12].

L'ensemble des études indique que les femmes exposées *in utero* avaient un risque multiplié par 2 à 5 d'infertilité et de nombreuses complications obstétricales, dominées par les fausses couches tardives et la prématurité. Hoover, en 2011, a colligé les données de trois cohortes initiées dans les années 1970 [7]:

- La cohorte DESAD (*National Cooperative Diethylstilbestrol Adenosis*), qui fait partie de la cohorte américaine du *National Cancer Institute* (NCI) constituée en 1975 (5 centres totalisant 4 015 personnes exposées au DES et 1 034 femmes non exposées).
- La cohorte dite de Dieckmann constituée en 1975 (363 femmes DES et 326 non-DES).
- Celle de la *Women's Health Study* (WHS), constituée en 1980 (5 centres totalisant 275 femmes DES, 567 non-DES). L'analyse a porté sur 12 événements de santé, les risques cumulatifs à 45 ans pour les 8 accidents de la reproduction chez 4 653 femmes exposées et 1 927 non-exposées étant les suivants :
  - infertilité, 33,3 % vs 15,5 % (OR [*Odds ratio*]: 2,37; IC 95 % : 2,05-2,75);
  - fausse couche précoce, 50,3 % vs 38,6 % (OR: 1,64; IC 95 % : 1,42-1,88);

## I Gynécologie

– prématurité, 53,3 % vs 17,8 % (OR: 4,68; IC 95 % : 3,74-5,86);  
 – fausse couche tardive, 16,4 % vs 1,7 % (OR: 3,77; IC 95 % : 2,56-5,54);  
 – grossesse extra-utérine, 14,6 % vs 2,9 % (OR: 3,72; IC 95 % : 2,58-5,38);  
 – prééclampsie, 26,4 % vs 13,7 % (OR: 1,42; IC 95 % : 1,07-1,89);  
 – mort *in utero*, 8,9 % vs 2,6 % (OR: 2,45; IC 95 % : 1,33-4,54) (**tableau I**) [7].

Les complications de la vie reproductive des femmes exposées au DES pendant leur vie intra-utérine ont été d'autant plus cruellement vécues qu'elles sont souvent survenues dans un contexte familial d'échecs de gestation de leur propre mère ayant motivé la prescription. Le risque d'infécondité involontaire durant au moins 1 an est donc multiplié par plus de 2 chez les femmes exposées, d'où une probabilité accrue des traitements de l'infertilité, notamment le recours à l'assistance médicale à la procréation (AMP).

L'insémination intra-utérine était la thérapeutique de choix des infertilités cervicales et la fécondation *in vitro* (FIV) l'indication dans les situations plus complexes. Néanmoins, ses résultats étaient moindres en termes de grossesse chez les femmes non exposées, essen-

tiellement en raison de difficultés accrues d'implantation embryonnaire, et surtout en termes de naissance puisque le parcours de FIV n'évitait évidemment pas les accidents obstétricaux liés à l'hypoplasie utérine et cervicale [13]. La vigilance pour éviter à tout prix une grossesse multiple, facteur de risque supplémentaire de prématurité dans ce contexte, devait être constante, le choix d'un ou deux embryons à transférer étant cependant toujours délicat entre ce risque et celui de l'échec. Dans ce contexte ont été discutées des plasties d'agrandissement de l'utérus, avec néanmoins la crainte d'une fragilisation utérine (hémorragies de la délivrance, rupture utérine). Un rapport de l'Agence nationale d'accréditation et d'évaluation en santé (ANAES) statuait en mai 2003 qu'aucune indication systématique de première intention n'était justifiée, et que toute indication autre devait être mesurée en connaissance de cause de l'absence d'évaluation de l'efficacité et de l'innocuité de cette pratique.

Quelques rares cas de projet d'enfant après adénocarcinome à cellules claires et traitement conservateur ont été accessibles avec succès en AMP.

Les mesures de prévention de la prématurité ont associé repos et arrêt de travail

précoce, ainsi que le cerclage préventif du col vers 15 SA [14].

### >>> Le cancer du sein

Le débat sur le risque cancérogène du DES pour la 2<sup>e</sup> génération a été relancé récemment avec la mise en évidence de la toxicité du bisphénol A, molécule voisine, perturbateur endocrinien tout comme le DES. L'inquiétude est celle des risques de cancers hormono-dépendants, principalement du sein. L'hypothèse est que l'exposition intensive aux estrogènes en période anténatale peut favoriser la génération de cellules souches spécifiques du tissu mammaire, facteur déterminant du risque de cancer du sein [9]. Deux études ont montré des résultats discordants. Celle de la cohorte du NCI menée aux États-Unis par Palmer *et al.* en 2006, portant sur deux groupes comparables de 3 812 femmes exposées et 1 637 témoins de 1978 à 2003, incrimine l'exposition au DES *in utero* comme facteur de risque augmentant l'incidence du cancer du sein après 40 ans [15]. Chez les femmes exposées de moins de 40 ans, le risque est égal à celui de la population générale : entre 40 et 50 ans, le risque relatif est de 1,91 (IC 95 % : 1,09-3,33) et voisin de 3 après 50 ans, à pondérer vu l'effectif réduit de cette tranche d'âge ; aucune corrélation n'existe entre le risque et l'introduction plus ou moins précoce du DES, retrouvée entre la dose et le risque, avec mise en évidence d'un effet dose-dépendant avec un RR (risque relatif) évalué à 1,63 (IC 95 % : 0,87-3,08) pour les doses faibles contre 2,17 (IC 95 % : 1,18-3,08) pour les doses fortes [15].

L'étude de Verloop *et al.*, comparant aux Pays-Bas les filles exposées au DES avec la population hollandaise, n'a trouvé quant à elle aucune augmentation du cancer du sein [16]. Une hypothèse pour ces résultats discordants, outre les différences méthodologiques et l'âge des cohortes, pourrait résider en des différences de doses de DES

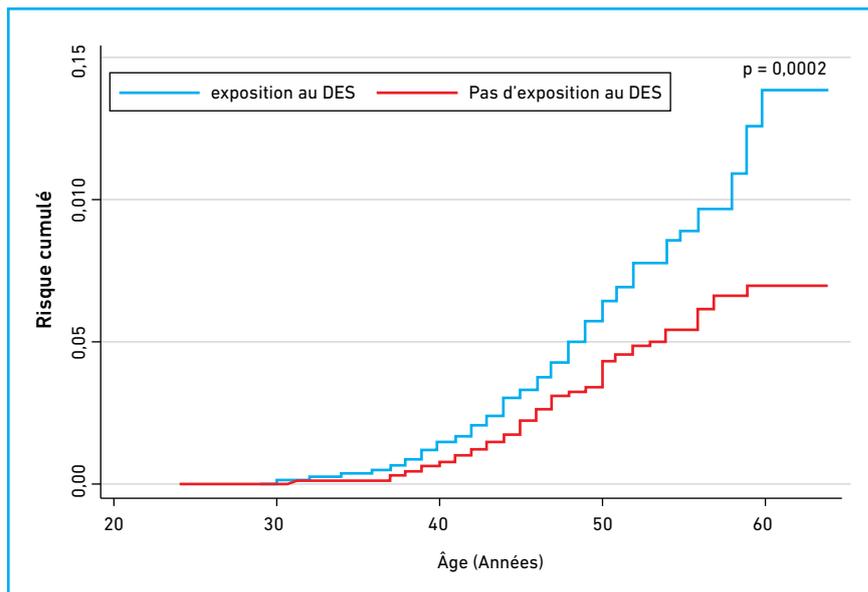
	Exposées N = 4 015	Non exposées N = 1 034	OR (IC 95 %)
Infertilité (%)	33	15,5	2,37 (2,05-2,75)
Fausse couche précoce (%)	50,3	38,6	1,64 (1,42-1,88)
Fausse couche tardive (%)	16,4	1,7	3,77 (2,56-5,54)
Prématurité (%)	53,3	17,8	4,68 (3,74-5,86)
Grossesse extra-utérine (%)	14,6	2,9	3,72 (2,58-5,38)
Prééclampsie (%)	26,4	13,7	1,42 (1,07-1,89)
Mort <i>in utero</i> (%)	8,9	2,6	2,45 (1,33-4,54)
Ménopause précoce (%)	5,1	1,7	2,35 (1,67-3,31)

**Tableau I** : Complications de la reproduction chez les femmes exposées ou non au DES (d'après Hoover, 2011). OR : *odds ratio* ; IC : intervalle de confiance.

## Gynécologie

prescrites aux Pays-Bas et aux États-Unis. En ce qui concerne la France, une étude suggère que les doses étaient généralement plus faibles en France qu'aux États-Unis [17].

En France, une cohorte de 3 436 femmes exposées au DES *in utero* et une cohorte comparable de 3 256 femmes non exposées ont été recrutées rétrospectivement à partir de réponses de volontaires nées entre 1950 et 1977 à des questionnaires proposés en 2013 [18]. Une augmentation significative des cancers du sein a été observée chez les femmes exposées, avec un risque relatif de 2,10 (IC 95 % : 1,60-2,76) par comparaison avec des femmes non exposées (**fig. 3**). Le **tableau II** détaille le risque en fonction des classes d'âge. Lorsque les femmes exposées étaient comparées



**Fig. 3 :** Risque cumulé de cancer du sein selon l'exposition *in utero* ou non au DES (d'après [18]).

	Exposées	Non exposées	RR	Ajustement à l'âge	Analyse multivariée <sup>a</sup>		
	N	N		IC 95 %	p	OR	IC 95 %
<b>Cancers du sein</b>	136	90	1	(1,44-2,48)	< 0,0001	2,1	(1,6-2,76)
Âge < 40 ans	39/133 663	19/126 057	1	(1,09-3,3)	0,0261	2	(1,23-3,75)
Âge 40-49 ans	74/20 216	46/19 316	1,6	(1,11-2,33)	0,0125	1	(1,19-2,52)
Âge ≥ 50 ans	23/4 186	25/7 706	1,6	(0,9-2,84)	0,1053	1	(1,05-3,37)
Âge ≥ 40 ans	97/24 402	71/26 923	1	(1,18-2,2)	0,0028	1	(1,31-2,47)
<b>Autres</b>	59	51	1	(0,9-1,94)	0,1530	1	(0,92-2,01)
Col	7	3	3	(0,88-15,22)	0,0927	3	(0,98-17,42)
Colorectal	6	4	1	(0,55-7,82)		2	(0,56-8,26)
Endomètre	1	1	NA			NA	
Leucémie	4	2	2	(0,51-19,45)	0,2650	2	(0,51-21,31)
Mélanome	15	12	1	(0,68-3,29)	0,3348	1	(0,71-3,53)
Ovaire	8	5	1	(0,65-6,56)	0,2416	1	(0,63-6,57)
Thyroïde	20	19	1	(0,59-2,1)	0,7399	1	(0,53-1,98)
Autres sites	11	10	0	(0,36-2,42)	0,8681	1	(0,36-2,73)

**Tableau II :** Risque de cancers selon l'exposition *in utero* au DES ou non (d'après [18]). <sup>À</sup> Ajusté sur l'âge, l'âge aux premières règles, la gestité, la parité, l'âge à la première naissance et la catégorie professionnelle. DES: diéthylstilbestrol; OR: Odds ratio; NA: non applicable.

## POINTS FORTS

### Génération 2 (exposée)

- Femmes et hommes nés en France entre 1950 et 1977 d'une mère à laquelle fut prescrit du Distilbène pendant la grossesse.
- Peu d'informations sur les hommes en dehors d'une augmentation des anomalies génitales.
- Chez les femmes, tous risques d'accidents de la reproduction multipliés par un facteur 2 à 5 (dont infertilité, fausses couches précoces et tardives, prématurité).
- Risque d'ACC (adénocarcinome à cellules claires) rare et dramatique justifiant une surveillance par frottis cervicaux-vaginaux annuels.
- Risque de cancer du sein multiplié par plus de 2, impliquant une surveillance mammaire identique à la situation de risque lié à la survenue de cancer du sein dans la parentèle proche.
- Pas de risque d'autres cancers démontré, mais le suivi des personnes exposées doit rester vigilant.

à la population générale en France, le taux d'incidence standardisé était de 2,33, (IC 95 % : 1,93-2,72). Dans le contexte de l'actuelle augmentation du cancer du sein dans la population générale, ces résultats constituent un vrai problème de santé publique. Le risque de développer un cancer du sein chez les femmes exposées *in utero* au DES est proche de celui de la population des femmes faisant partie de familles comptant un cas de cancer du sein parmi leurs membres. On peut donc, par extrapolation, appliquer ici les recommandations de dépistage propres à ce groupe.

#### >>> Les autres cancers

Pour les cancers autres que l'ACC et le cancer du sein, aucun excès de risque n'est retrouvé dans l'étude du NCI [15] ni dans l'étude hollandaise en dehors d'un risque accru de mélanomes avant 40 ans [16]. Dans l'étude française, adénocarcinomes à cellules claires du col ou du vagin exceptés, on retrouve une augmentation globale mais non significative

des autres cancers (**tableau II**), le maintien d'une attention soutenue restant de rigueur [18].

### 2. Les garçons de la génération 2

L'expérimentation animale a très tôt identifié des anomalies de l'appareil reproducteur chez les murins mâles exposés [19]. Chez l'humain, si autant de garçons que de filles ont été exposés, les conséquences les concernant sont moins connues, essentiellement par ignorance de l'événement exposition, difficile à retrouver et probablement sous-évalué compte tenu de la plus rare communication entre fils et mère à propos de sa vie génésique. Néanmoins, une augmentation du risque de survenue d'anomalies congénitales des organes reproducteurs masculins est fortement suspectée [20]. Plusieurs auteurs font état d'une augmentation de la survenue des hypospadias (le risque relatif retenu est de 1,7, c'est-à-dire 70 % plus élevé que la population générale), de même que de cryptorchidie et de kystes épидidymaires [21].

Plus difficile à retenir est l'évaluation d'un éventuel retentissement sur la fertilité dans le contexte mondial de la baisse de la fertilité masculine, sans lien établi avec l'impact du DES. Tout au plus peut-on évoquer le fait d'une naissance avant 1977 et retrouver la notion d'une difficulté lors de la mise en route de cette grossesse.

Encore plus délicate est l'appréciation du lien entre cancer du testicule et exposition au DES *in utero*, en raison notamment de l'augmentation récente, pour des raisons environnementales (perturbateurs endocriniens), de la fréquence du cancer du testicule. Une étude parue en 2001 évoquerait un risque multiplié par 3 pour ce qui est plus spécifiquement du cancer testiculaire [22].

### ■ La troisième génération

Les effets du DES sur la descendance (génération 3) des sujets exposés *in utero*, c'est-à-dire deux générations après celle de la femme traitée par Distilbène, peuvent être de trois ordres : il peut s'agir de conséquences des troubles de la fertilité maternelle, de celles des pathologies de la grossesse (génération 2) ou d'effets propres induits par le DES à distance sur les générations suivantes [23].

#### 1. Le contexte d'infertilité maternelle

Présent dans 1 cas sur 2 chez les femmes exposées avec une probabilité accrue de recours à l'AMP (assistance médicale à la procréation), il a pu en lui-même générer une légère augmentation des complications néonatales. De nombreuses études de cohorte indiquent que les enfants issus de l'AMP, y compris d'une grossesse unique, présentent des taux de prématurité et d'hypotrophie significativement plus élevés que ceux de populations témoins d'enfants conçus naturellement. Parmi les facteurs pris en compte figurent l'âge maternel plus avancé, l'effet propre des médicaments inducteurs de l'ovu-

## I Gynécologie

lation, les techniques d'AMP. Pour les femmes exposées au DES, l'hypothèse de l'influence de l'infertilité maternelle (génération 2) se combine à celle de l'infertilité ou des troubles de la reproduction de la génération 1.

### 2. Les complications de la prématurité : paralysie cérébrale

La plupart des pathologies affectant les nouveau-nés sont en fait liées à la prématurité, dont le taux est significativement augmenté dans l'ensemble des études, notamment la prématurité sévère (28-32 SA), de même que le retard de croissance intra-utérin lié à un défaut de perfusion placentaire, complications potentiellement génératrices de séquelles, avec un taux de morbidité et de mortalité périnatales accru [7].

Il est établi que les troubles du développement psychomoteur, correspondant au terme anglo-saxon de "*cerebral palsy*", sont liés à la naissance prématurée [24]. L'enquête rétrospective menée en France en 2013 auprès de volontaires né(e)s entre 1950 et 1977 et leurs enfants, initiée par l'association Réseau DES avec l'appui de la Mutualité Française, retrouve une incidence de la paralysie cérébrale dans le groupe d'enfants nés de parents exposés de 187/10 000 après naissance prématurée et de 18/10 000 dans le groupe à terme, variant selon l'âge gestationnel à la naissance, de 822 avant 28 SA, 431 entre 28 et 31 SA, 67 entre 32 et 36 SA et 13 à terme pour 10 000 naissances [25]. En bref, cette étude, en accord avec la littérature [24], suggère la survenue d'une augmentation significative des troubles du développement psychomoteur associée à une plus grande incidence de naissances avant terme dans la cohorte exposée.

### 3. Effets transgénérationnels du DES : malformations congénitales

Des expérimentations chez la souris suggèrent la participation de modifications épigénétiques concernant la

génération 2 (exposée) par altération de l'expression de gènes due à l'imprégnation hormonale excessive à des moments clés du développement embryonnaire, et leur transmission à la descendance (génération 3) de ces souris exposées [26]. L'expérimentation animale a montré une augmentation de tumeurs bénignes ou malignes, particulièrement utérines et ovariennes, dans la 3<sup>e</sup> génération. La transposition des données animales à l'homme est restée jusqu'à peu une hypothèse réfutable car non démontrée. Le questionnement sur les conséquences chez les garçons et filles nés de femmes exposées est de deux ordres : augmentation de malformations et/ou de cancers.

Les travaux les plus fournis et les plus ouverts sur l'avenir concernent la population américaine exposée au DES, puisqu'en 1992 le NCI a institué le "*DES Follow-Up Study*" qui constitue une cohorte cas-témoins des effets du DES sur la santé des sujets traités et exposés [27]. Cette étude suggère une augmentation globale du taux de malformations chez les garçons et filles de mères exposées, mais sans démonstration de significativité ou avec intervention de biais,

## POINTS FORTS

### Génération 3

(issue de la génération exposée : "petits-enfants du Distilbène")

- Surcroît de complications liées aux naissances prématurées plus fréquentes chez leurs mères exposées, génératrices de troubles du développement psychomoteur.
- Augmentation des malformations dominées par les anomalies de l'appareil génital des garçons (hypospadias, cryptorchidie), l'atrésie de l'œsophage, les fentes palatines, les malformations cardiaques. Leur caractère transgénérationnel soulève l'hypothèse épigénétique.
- Pas d'anomalies génitales chez les filles à la différence de leurs mères exposées.
- Pas d'augmentation significative des cancers comme l'auraient laissé craindre les études animales.

notamment concernant la tendance à l'augmentation de malformations cardiaques chez les filles. L'enquête rétrospective française a permis de constituer une cohorte conséquente d'enfants de la génération 3 [25]. Les résultats de l'étude sont les suivants :

- les mères exposées au DES ont signalé 275/4 409 enfants atteints de malformations congénitales (6,2 %), dont 101/2 228 filles (4,5 %) et 174/2 181 garçons (7,9 %);
- chez les mères non exposées, 163/6 203 enfants étaient affectés (2,6 %), dont 68/3 052 filles (2,2 %) et 95/3 149 garçons (3,0 %);
- le risque relatif pour les enfants exposés par rapport aux enfants non exposés était de 2,29 (IC 95 % : 1,80-2,79) (**tableau I**);
- les 6 malformations congénitales statistiquement significatives ont été, par ordre décroissant de risque : les atrésies de l'œsophage et autres malformations digestives, les anomalies de l'appareil génital masculin (hypospadias et cryptorchidies notamment), les fentes labiale et palatine, les anomalies musculo-squelettiques, les cardiopathies congénitales;
- aucune autre association significative n'a été observée, en particulier pour les organes féminins.

Comparé à la population générale du registre européen des malformations Eurocat [28], le risque relatif pour l'ensemble des malformations chez les enfants exposés et non exposés était respectivement de 2,39 (IC 95 % : 2,11-2,68) et 1,01 (IC 95 % : 0,86-1,17). Nous évoquerons les plus significatives.

### >>> Anomalies de l'appareil génital masculin

Malformation congénitale de la verge (anomalie de fermeture de l'urètre) concernant 1 à 3 garçons sur 1000, l'hypospadias peut se manifester sous plusieurs formes, de bénignes à très sévères. Depuis une cinquantaine d'années, ce type de malformation semble en constante augmentation. D'origine plurifactorielle, elle peut s'expliquer par des anomalies génétiques, des défauts de récepteur aux androgènes ou d'enzymes impliqués dans le métabolisme de la testostérone, ainsi que des variations des taux d'hormones sexuelles entre 8 et 14 SA chez la mère du sujet atteint [29]. Par ailleurs, toute exposition à des facteurs toxiques et/ou des perturbateurs endocriniens pendant la grossesse tels que les pesticides, certains adjuvants de plastiques, cosmétiques, shampoings, teintures pour cheveux ou autres produits chimiques, sont susceptibles de favoriser la survenue d'anomalies de l'appareil génital masculin ainsi que des anomalies de la spermatogénèse.

Dès 2001, une étude portant sur la cohorte hollandaise Omega alertait pour la première fois sur le risque accru d'hypospadias dans la génération 3 avec un ratio de 19,5 ‰ garçons atteints nés de 205 femmes exposées *in utero* versus 0,9 ‰ nés de 87 290 femmes non exposées (OR : 21,3 ; IC 95 % : 6,5-70,1) [30]. Cette première publication a été suivie par trois autres études, aux résultats similaires. La méta-analyse de ces quatre publications est en faveur d'un effet délétère de l'exposition au DES sur la survenue d'hypospadias chez le petit-fils (OR : 5,4 ; IC 95 % : 1,8-16,1) [23].

Les travaux sur la cohorte américaine du NCI, comme l'étude française, retrouvent tant une augmentation du taux d'hypospadias que de cryptorchidie [25, 27]. Les mécanismes évoqués sont, chez les fils des hommes exposés, des anomalies de méthylation de l'ADN en faveur de la théorie épigénétique et, chez les fils des femmes exposées, l'hypothèse de la dysfonction placentaire interférant avec le développement génital du fœtus mâle et une possible implication de gènes impliqués dans la différenciation sexuelle.

### >>> Anomalies de l'appareil génital féminin

L'attention est particulièrement centrée sur la recherche de ces malformations, d'une part car les familles et leur médecin expriment une préoccupation générale pour les filles susceptibles de reproduire des anomalies génitales de leur mère exposée *in utero*, et d'autre part du fait des données animales. Dans l'étude américaine [27], aucune des mères de 3 808 filles n'a rapporté d'anomalie de l'appareil génital.

Dans l'étude française, les femmes exposées au DES ont signalé 2 anomalies génitales parmi 2 268 filles : un syndrome de Rokitsansky et un utérus bicorne sans lien évident avec l'exposition au DES *in utero* de leur mère [25]. Ces études fournissent un message rassurant pour les filles de femmes exposées *in utero*. Cependant, cette évaluation doit être poursuivie. En 2013, date des questionnaires, la moitié de cette troisième génération de filles de 43 ans ou moins avait moins de 18 ans.

### >>> Atrésie de l'œsophage et fistule trachéo-œsophagienne

Une étude néerlandaise a constaté, pour la première fois, une association significative entre l'exposition de la mère au DES et l'atrésie œsophagienne [31]. Dans l'étude de suivi du NCI, cette pathologie a été observée dans 3 cas dans la cohorte exposée mais pas chez les non-exposés, cependant la différence n'était pas

statistiquement significative ( $p = 0,20$ ) [27]. Dans l'étude française, nous avons trouvé 16 cas dans la cohorte exposée et 1 dans la non-exposée, ainsi qu'une augmentation significative vis-à-vis de la population générale [25]. Ces résultats sont en faveur d'un effet transgénérationnel du DES hors tractus génital, dans le sens de l'hypothèse d'effets mutagènes sur les cellules germinales de la mère au moment de l'exposition au DES.

### >>> Malformations cardiovasculaires

Une augmentation des anomalies cardiovasculaires a été signalée pour la première fois dans la cohorte NCI [27], avec un risque relatif de 1,84 (IC 95 % : 0,91-3,72). Toutefois, les investigateurs, prudents, n'éliminaient pas le biais d'une sous-déclaration par les mères non exposées. Dans l'enquête française, 33 malformations ont été trouvées chez 4 483 sujets dans le groupe exposé et 21 chez 6 329 dans le groupe non exposé (7,3 vs 1,3 pour 1 000) [25]. Le risque était également augmenté de façon significative comparé à la population générale. Sur les 11 malformations analysées, la principale augmentation concernait la tétralogie de Fallot (6 enfants, 3 garçons et 3 filles vs 1 fille dans le groupe exposé, vs non exposé), différence uniquement significative avec la population générale [25, 28]. Ces résultats suggèrent une augmentation des malformations cardiovasculaires en cas d'exposition, sans minimiser l'éventuel biais de sélection dû à la méthode rétrospective et au recrutement volontaire.

### 4. Effets transgénérationnels du DES : les cancers

L'inquiétude était née des cancers génitaux décrits dans les expérimentations chez la souris (incidence élevée, chez les descendants d'animaux exposés *in utero* au DES, des cancers de l'utérus et de l'ovaire chez les femelles et du tractus génital chez les mâles). Les études humaines sont heureusement, à ce jour, rassurantes. Il n'y a pas d'augmentation

## Gynécologie

globale des cancers chez les enfants de mères exposées. Notamment, il n'y a aucune augmentation des cancers du testicule chez les garçons (à la différence de ce qui a été décrit dans la génération 2). Aucune fille n'a présenté d'adénocarcinome du col ou du vagin. L'étude de suivi du NCI a seulement relevé une incidence des cancers ovariens (3 cas) plus élevée qu'attendu, fait ou non du hasard, et qui demande confirmation sur un plus long terme [27].

L'enquête française entre exposés et non-exposés n'a pas révélé non plus de différence pour tous les cancers, mais les conclusions de cette étude sont limitées par le jeune âge de la population ( $\leq 43$  ans) alors que l'incidence de la plupart des cancers augmente avec l'âge [25].

### Conclusion

Les conséquences de l'exposition *in utero* au Distilbène ont été dominées pendant près de 40 ans par les drames de l'infertilité et des accidents obstétricaux pour les femmes de la génération 2, eux-mêmes générateurs d'une fréquence de pathologies du développement psychomoteur liées à la prématurité dans la génération 3. Les études récentes sont en faveur d'un risque accru de développer un cancer du sein chez les femmes exposées *in utero* au DES, conduisant à appliquer les recommandations de dépistage identiques à celles des femmes de familles comptant un cas de cancer du sein parmi leurs membres proches. Pour les cancers autres que l'ACC et le cancer du sein, aucun excès de risque n'est démontré, mais le maintien d'une attention soutenue reste de rigueur.

Les résultats des études concordent et confirment une transmission transgénérationnelle à la 3<sup>e</sup> génération de malformations congénitales du tractus génital masculin. Avec une prudence liée aux biais possibles associés aux études rétrospectives et/ou par questionnaires, les données suggèrent une augmentation

des anomalies œsophagiennes, fentes labiale ou palatine, des troubles musculo-squelettiques et cardiaques. Un point encourageant est l'absence d'augmentation significative, pour les filles de la 3<sup>e</sup> génération, de malformations ou de cancers génitaux qui ont touché la génération exposée, mais il est encore difficile de conclure définitivement. La possibilité d'altérations épigénétiques transmissibles d'une génération à l'autre dans l'espèce humaine ouvre la réflexion sur les implications profondes de l'impact de l'exposition *in utero* à des substances chimiques, incluant les perturbateurs endocriniens.

L'expérience du Distilbène est exemplaire et d'une actualité qui doit inciter les acteurs de la santé publique à rester vigilants sur les générations issues de la génération exposée, et plus généralement sur la prescription de thérapeutiques périconceptionnelles telles que les traitements hormonaux délivrés en début de grossesse, notamment dans le cadre des procréations assistées, dont l'effet escompté doit toujours être mis en balance avec la possible nocivité à distance et faire l'objet d'évaluations.

### BIBLIOGRAPHIE

- SMITH OW. Diethylstilbestrol in the prevention and treatment of complications of pregnancy. *Am J Obstet Gynecol*, 1948; 56: 821-834.
- DIECKMANN WJ, DAVIS ME, RYNKIEWICZ LM *et al.* Does the administration of diethylstilbestrol during pregnancy have therapeutic value? *Am J Obstet Gynecol*, 1953;66:1062-1081.
- TOURNAIRE M, EPELBOIN S, DEVOUCHE E. Histoire du diéthylstilbestrol. [Diethylstilbestrol story]. *Thérapie*, 2014;69:101-114.
- HERBST AL, ULFELDER H, POSKANZER DC. Adenocarcinoma of the vagina. Association of maternal stilbestrol therapy with tumor appearance in young women. *New Engl J Med*, 1971;284: 878-881.
- TURUSOV VS, TRUKHANOVA LS, PARFENOV YU *et al.* Occurrence of tumours in the descendants of CBA male mice prena-

- tally treated with diethylstilbestrol. *Int J Cancer*, 1992;50:131-135.
- TROISI R, HATCH EE, PALMER JR *et al.* Prenatal diethylstilbestrol exposure and high-grade squamous cell neoplasia of the lower genital tract. *Am J Obstet Gynecol*, 2016;215:322.e1-8.
- HOOPER RN, HYER M, PFEIFFER RM *et al.* Adverse health outcomes in women exposed in utero to diethylstilbestrol. *N Engl J Med*, 2011;365:1304-1314
- KAUFMAN R, BINDER G, GRAY P *et al.* Upper genital tract changes associated with exposure in utero to diethylstilbestrol. *Am J Obstet Gynecol*, 1977;128:51-59.
- HATCH EE, TROISI E, WISE LA *et al.* Age at natural menopause in women exposed to diethylstilbestrol in utero. *Am J Epidemiol*, 2006;164:682-688.
- EPELBOIN S. Retentissement sur la fertilité féminine de l'exposition au DES in utero in DES (Distilbène-Stilbestrol), trois générations : réalités-perspectives. *Vigot*, 2010;47-80.
- HERBST AL, HUBBY MM, AZIZI F. Reproductive and gynecologic surgical experience in diethylstilbestrol-exposed daughters. *Am J Obstet Gynecol*, 1981;141:1019-1028.
- CABAU A. Malformations utérines chez les filles exposées au Distilbène® pendant leur vie embryonnaire, conséquences sur la fécondité. *Contracept Fertil Sex*, 1982;10477-10487
- KERJEAN A, POIROT C, EPELBOIN S *et al.* Effect of in utero diethylstilbestrol exposure on human oocyte quality and fertilization in a programme of in vitro fertilization. *Hum Reprod*, 1999;14:1578-1581
- TOURNAIRE M, LEPERCQ J, EPELBOIN S. The daughters of diethylstilbestrol. Lessons from an error. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol*, 1997, 75:25-27.
- PALMER JR, WISE LA, HATCH EE *et al.* Prenatal diethylstilbestrol exposure and risk of breast cancer. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*, 2006;15:1509-1514.
- VERLOOP J, VAN JEEUVEN FE, HELMERHORST TJM *et al.* Cancer risk in DES daughters. *Cancer Causes Control*, 2010; 21:999-1007.
- TOURNAIRE M, DEVOUCHE E, EPELBOIN S *et al.* Diethylstilbestrol exposure: evaluation of the doses received in France. *Eur J Epidemiol*, 2012;27:315-316.
- TOURNAIRE M, DEVOUCHE E, ESPÍE M *et al.* Cancer Risk in Women Exposed to Diethylstilbestrol in Utero. *Thérapie*, 2015;70:433-441.
- MCLACHLAN JA, NEWBOLD RR, BULLOCK B. Reproductive tract lesions in male mice

- exposed prenatally to diethylstilbestrol. *Science*, 1975;190:991-992.
20. RIGOT JM. "Fils DES" (2<sup>e</sup> génération) : anomalies, fertilité; DES (Distilbène-Stilbestrol), trois générations : réalités-perspectives. *Vigot*, 2010:119-125
  21. PALMER JR, HERBST AL, NOLLER KL *et al.* Urogenital abnormalities in men exposed to diethylstilbestrol in utero: a cohort study. *Environ Health*, 2009;8:37.
  22. STROHSNITTER WC, NOLLER KL, HOOVER RN *et al.* Cancer risk in men exposed in utero to diethylstilbestrol. *J Natl Cancer Inst*, 2001;93:545-551.
  23. EPELBOIN S, GIORGIS ALLEMAND L, TOURNAIRE *et al.* Influence de l'exposition intra-utérine au DES (Distilbène®) sur la survenue d'hypospadias et autres anomalies congénitales dans la descendance. Rapport Agence nationale de la sécurité des médicaments et des produits de santé (ANSM), 2011.
  24. HIMPENS E, VAN DE BROECK C, OOSTRA A *et al.* Prevalence, type, distribution, and severity of cerebral palsy in relation to gestational age: A meta-analytic review. *Dev Med Child Neurol*, 2008;50:334-340.
  25. TOURNAIRE M, EPELBOIN S, DEVOUCHE E *et al.* Adverse health effects in children of women exposed in utero to diethylstilbestrol (DES). *Thérapie*, 2016;71:395-404.
  26. MCLACHLAN JA, BUROW M, CHIANG TC *et al.* Gene imprinting in developmental toxicology: a possible interface between physiology and pathology. *Toxicol Lett*, 2001;120:161-164.
  27. TITUS-ERNSTOFF L, TROISI R, HATCH EE *et al.* Offspring of women exposed in utero to diethylstilbestrol (DES): a preliminary report of benign and malignant pathology in the third generation. *Epidemiology*, 2008;19:251-257.
  28. European Surveillance of Congenital Anomalies Twins (Eurocat). Eurocat Register; 2016 <http://www.eurocat-network.eu/> [Accessed January 18th, 2016].
  29. NORGIL DAMGAARD I, MAIN KM, TOPPARI J *et al.* Impact of exposure to endocrine disrupters in utero and in childhood on adult reproduction. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab*, 2002;16:289-309.
  30. KLIP H, VERLOOP J, VAN GOOL JD *et al*; OMEGA Project Group. Hypospadias in sons of women exposed to diethylstilbestrol in utero: a cohort study. *Lancet*, 2002;359:1102-1107.
  31. FELIX JF, STEEGERS-THEUNISSEN RP, DE WALLE HE *et al.* Esophageal atresia and tracheoesophageal fistula in children of women exposed to diethylstilbestrol in utero. *Am J Obstet Gynecol*, 2007;197:38.e1-5.

---

Les auteurs ont déclaré ne pas avoir de conflits d'intérêts concernant les données publiées dans cet article.