



LES
CAHIERS
DE LA
RECHERCHE

Santé, Environnement, Travail

Les perturbateurs endocriniens en 12 projets
Comprendre où en est la recherche

DÉCEMBRE 2012 Édition scientifique

PNRPE

PROGRAMME
NATIONAL
DE RECHERCHE
SUR LES
PERTURBATEURS
ENDOCRINIENS

De nombreux risques associés aux nouvelles technologies, procédés industriels ou substances chimiques, ont en commun de relever du domaine du complexe et de l'incertain, d'être peu ou pas documentés par des études scientifiques et, en l'absence fréquente de consensus scientifique, de faire débat dans la société, le débat portant soit sur l'existence soit sur le niveau de ces risques. C'est le cas par exemple pour les nanomatériaux, les radiofréquences et de nombreuses substances chimiques. On attend alors de la science qu'elle produise des connaissances pour éclairer les décideurs publics dans la gestion proportionnée de ces risques. Les interrogations sont multiples depuis celles portant sur la caractérisation des dangers, la mesure des expositions jusqu'à la caractérisation des risques. Existe-t-il au niveau cellulaire des modifications biologiques qui permettraient de décrire et de comprendre les mécanismes d'action sur les tissus exposés au danger potentiel qu'il soit chimique, physique ou microbiologique ? Observe-t-on des effets sur des modèles animaux ou des cultures de cellules ? Si oui, sont-ils extrapolables à l'homme ? Existe-t-il des méthodes de mesure appropriées pour évaluer l'exposition de la population à ces dangers ? Quel niveau de preuve est apporté par les études épidémiologiques si elles existent ? Autant de questions qui justifient l'effort consenti par les pouvoirs publics afin de financer des projets de recherche dans le cadre de programmes nationaux.

L'Anses a décidé de produire une série de fascicules thématiques visant à montrer comment de tels projets contribuent à construire des connaissances qui seront utiles ensuite pour évaluer le risque et contribuer à établir des réglementations. Un effort est fait pour que le contenu de ces recherches soit accessible au plus grand nombre.

Pour ce premier numéro, qui résulte d'une collaboration entre l'Anses et le ministère de l'Écologie du Développement durable et de l'Énergie, le MEDDE, c'est la thématique des perturbateurs endocriniens qui a été retenue. On appelle ainsi des substances chimiques auxquelles l'organisme humain peut être exposé par différentes voies (orale, respiratoire, cutanée) et qui seraient susceptibles de modifier le fonctionnement normal du système hormonal. Elles sont aujourd'hui suspectées d'être à l'origine de troubles de la reproduction et de la fertilité, mais aussi d'effets métaboliques, de troubles cardio-vasculaires voire de certains cancers. Ces substances agiraient à des doses d'exposition humaine faibles, parfois uniquement pendant certaines périodes de susceptibilité particulières telles que la période de vie *in utero*, et leurs effets sur la santé humaine sont difficiles à mettre en évidence notamment en raison du délai long entre période d'exposition et apparition de troubles de la santé. Parmi la liste des substances soupçonnées d'induire une perturbation endocrinienne, certaines sont d'un usage très répandu. C'est le cas du bisphénol A, dont des effets avérés chez l'animal sont également suspectés chez l'homme et pour lequel l'Anses a recommandé en priorité une réduction de l'exposition des populations sensibles (femmes enceintes et enfants). En 2010, cette substance a été interdite dans les biberons. En 2012, une proposition

de loi prévoyant son interdiction dans les conditionnements à vocation alimentaire est en cours d'examen au Parlement.

Les recherches dans ce domaine sont financées par le MEDDE et l'Anses au travers d'actions comme le Programme National de Recherche sur les Perturbateurs Endocriniens (PNRPE) ou le Programme National de Recherche Environnement-Santé-Travail. Dans ce fascicule, douze projets scientifiques soutenus dans le cadre du PNRPE et démarrés en 2009 sont examinés. Pour chacun d'entre eux sont expliqués le contexte qui a poussé l'équipe de recherche à construire son projet, les méthodes auxquelles elle fait appel, les résultats.

Terminons cet éditorial en notant que la Conférence environnementale pour la transition écologique qui s'est tenue les 14 et 15 septembre 2012 a inscrit la thématique des perturbateurs endocriniens dans les chantiers prioritaires en matière de prévention des risques sanitaires environnementaux. Une stratégie nationale comprenant des actions de recherche, d'expertise, d'information du public et de réflexion sur l'encadrement réglementaire doit être élaborée d'ici juin 2013. D'ores et déjà, le colloque international organisé par l'Anses et le MEDDE en décembre 2012 fait le point des connaissances sur les modes d'action et l'impact sanitaire et environnemental des perturbateurs endocriniens.

Laurent Tapadinhas

Marc Mortureux

Directeur de la recherche et de l'innovation
au Commissariat général au développement
durable (CGDD), Ministère chargé de
l'Écologie

Directeur Général de l'Anses



Le PNRPE en chiffres



7 thèmes de recherche prioritaires aujourd'hui



Caractérisation de l'exposition aux perturbateurs endocriniens ;



Développement d'outils et de stratégies permettant d'améliorer l'évaluation des dangers et des risques des perturbateurs endocriniens ;



Phénomènes de cocktail de substances et de leurs métabolites (ou produits de dégradation) ;



Modulation de la réponse aux perturbateurs endocriniens ;



Analyse du risque sanitaire ou des coûts induits par l'exposition aux perturbateurs endocriniens ;



Prise en charge du problème des perturbateurs endocriniens dans les politiques publiques ;



Perturbateurs endocriniens et pratique scientifique.



3 appels à propositions de recherche (APR)



2005, couvrant l'intégralité des axes de recherche du PNRPE



2008, introduisant une dimension sciences humaines et sociales



2010, approfondissant l'ensemble des thèmes déjà engagés



31 projets de recherche financés



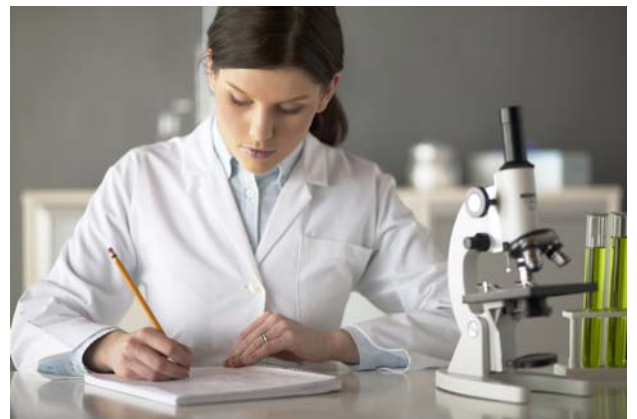
7 en 2005



15 en 2009



9 en 2010



60 équipes de recherche mobilisées



AP-HP, Biogenouest, Cemagref, CNRS, CTIS, Hydrosociences, Ineris, Inra, Inserm, IRCM, L'Oréal, Muséum National d'Histoire Naturelle, NovoNordisk, Onema, Procter & Gamble, Universités, WatchFrog...



Plus de 4 millions d'euros engagés, dont



0,4 M € financés par l'Ademe (deux projets en 2008)



4 M € financés par le Ministère de l'Écologie du Développement durable et de l'Énergie (MEDDE)



5 actions de valorisation



Colloque de lancement du PNRPE, 3 octobre 2006 (Paris)



Workshop : séminaire de mi-parcours, 10 mars 2008 (Angers)



Colloque de présentation des premiers résultats : bilan, résultats et perspectives pour les années à venir, 12-13 avril 2010 (Rennes)



Séminaire de présentation des projets financés par l'APR 2010, 9 mai 2012 (Paris)



Conférence internationale sur les perturbateurs endocriniens, 10-11 décembre 2012 (Paris)



Pour en savoir plus et suivre l'actualité du programme, consultez le site dédié :

PNRPE
PROGRAMME NATIONAL DE RECHERCHE SUR LES PERTURBATEURS ENDOCRINIENS

Accueil A propos APR Recherches financées Documents Liens Calendrier

Accueil du site > A propos

Qu'est-ce qu'un perturbateur endocrinien ?

Qu'est-ce qu'un perturbateur endocrinien ?

La question de la perturbation endocrinienne liée à des substances présentes dans l'environnement a émergé dans les années 1960 aux Etats-Unis. Les productions scientifiques sur ce phénomène se sont amplifiées dans les années 1990. C'est notamment à cette époque qu'ont été publiées plusieurs études sur le déclin de la qualité du sperme, l'augmentation de la fréquence du cancer du testicule et de certaines anomalies du développement du tractus génital, ainsi que l'augmentation de l'incidence de certaines pathologies hormono-dépendantes chez les humains.

Simultanément, des anomalies du système reproducteur de diverses espèces aquatiques (poissons, mollusques, amphibiens) vivant dans des rivières, lacs et estuaires ont été observées, en relation avec des contaminations de ces milieux par des polluants chimiques. Des travaux plus fondamentaux, in vivo et in vitro, ont permis de commencer à déchiffrer les mécanismes par lesquels certains xénobiotiques (substances étrangères à l'organisme vivant) peuvent interagir avec le système endocrinien. Les substances à l'origine de ces perturbations biologiques sont communément désignées sous le terme de « Perturbateurs Endocriniens ».

« Un perturbateur endocrinien (PE) est une substance ou un mélange exogène altérant les fonctions du système endocrinien et induisant donc des effets nocifs sur la santé d'un organisme intact, de ses descendants ou sous-populations »
Définition adoptée par l'Union Européenne en 1999.

Accéder à la rubrique « Publications » qui regroupe les documents de référence sur la question de la perturbation endocrinienne.

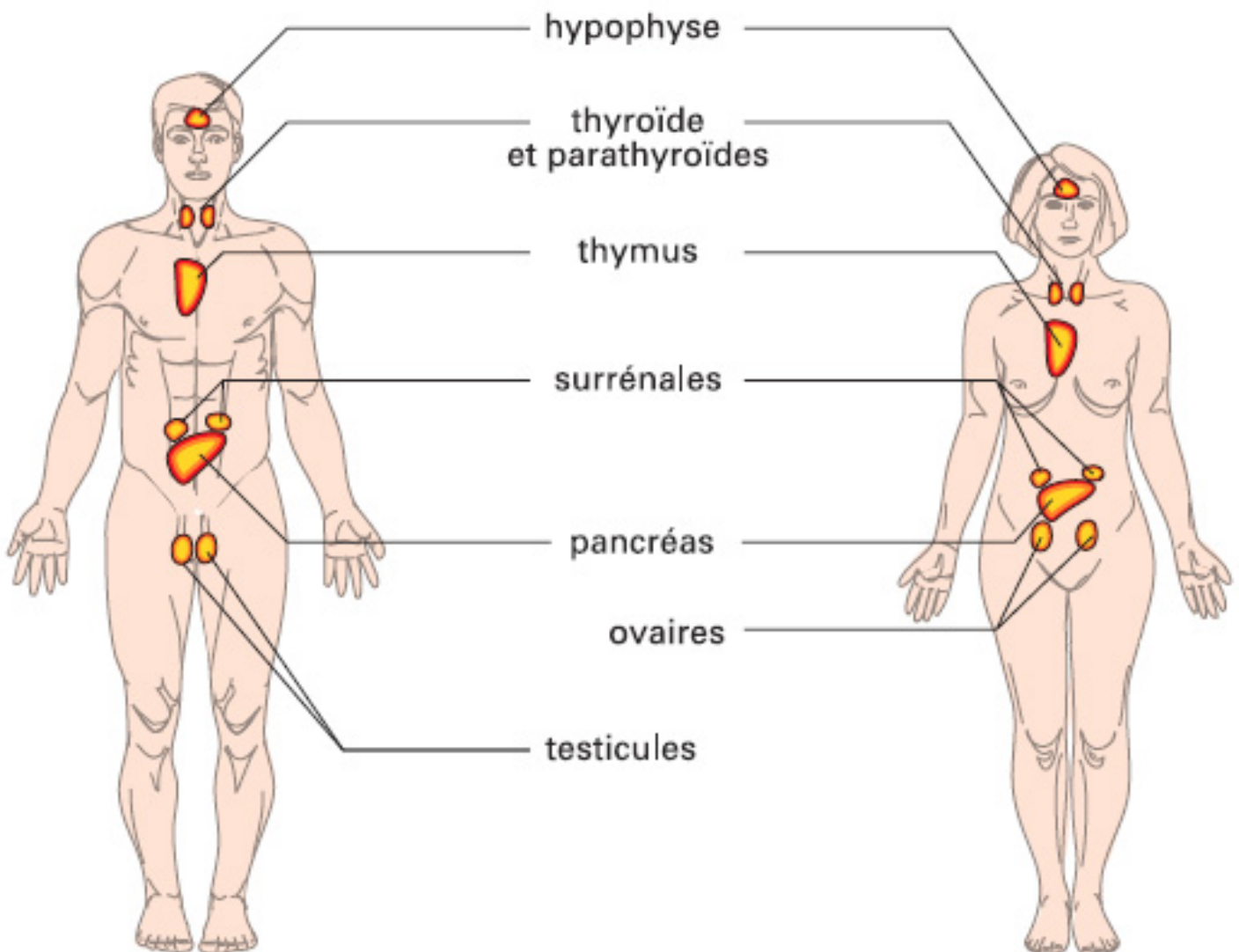
Événements à venir
11 DÉCEMBRE 2012
PNRPE 2012 INTERNATIONAL CONFERENCE
En savoir +

Accès privé
Identifiant
Mot de passe
OK

www.pnrpe.fr

Le système endocrinien

Le système endocrinien est un ensemble composé de nombreux organes (hypophyse, thyroïde et parathyroïdes, thymus, surrénales, pancréas, ovaires et testicules) qui secrètent des hormones diffusées dans notre corps par le sang. Il est indispensable au bon fonctionnement de notre organisme – les hormones contrôlant notre croissance, notre développement, la régulation de notre température corporelle, notre métabolisme et notre système reproducteur : même à très faible dose. Ce qui signifie que la moindre altération du système endocrinien peut perturber notre équilibre à l'image du diabète par exemple.



Le système endocrinien (source : INRS)

Sommaire

Introduction.....	7
Les perturbateurs endocriniens : une approche particulière des relations dose-effet.....	12
Diabète de l'enfant	14
PCB, diabète de type 2 et obésité.....	16
Perturbateurs endocriniens et métaboliques.....	19
Exposition continue à des mélanges de perturbateurs endocriniens	21
Hydrocarbures aromatiques.....	25
Mycotoxines et tissus hormono-dépendants	27
Réponse des abeilles aux perturbateurs endocriniens.....	29
Endocrinair : contamination de l'air ambiant.....	32
Écosystèmes épuratoires : dissipation ou devenir des micropolluants	34
Déceler la perturbation endocrinienne à faibles doses	36
Les récepteurs aux corticostéroïdes chez le médaka	38
Distilbène, quelles leçons sociologiques ?.....	39
Les actions de l'Anses sur les perturbateurs endocriniens.....	42
Les actions du MEDDE sur les perturbateurs endocriniens.....	44
Index des substances citées	46
Glossaire.....	47
Mentions légales	51

Avertissement à l'attention des lecteurs



Les fiches de présentation des projets de recherche reflètent les points de vue des équipes scientifiques partenaires et n'engagent ni le Conseil scientifique ou le Comité d'Orientat ion du PNRPE, ni le MEDDE ou l'Anses. Pour toute question, les contacts sont indiqués à la fin de chaque fiche.

Introduction

Les perturbateurs endocriniens sont définis comme des substances d'origine extérieure à l'organisme et susceptibles de modifier le fonctionnement normal du système hormonal. Ces substances peuvent se trouver dans l'air, l'eau, le sol, les aliments et dans un grand nombre d'objets courants. Leurs effets sur la santé animale et humaine sont complexes et sont sujets à controverse. On les soupçonne notamment de perturber la fonction de reproduction, mais elles peuvent aussi être à l'origine de troubles métaboliques (diabète, obésité) et favoriser le développement de cancers hormono-dépendants. L'hypothèse selon laquelle certains de leurs effets puissent se transmettre d'une génération à l'autre fait l'objet de controverses scientifiques au niveau international. Certaines sont désormais très présentes dans l'écosystème terrestre et des effets notamment sur des poissons sont clairement mis en évidence dans des études scientifiques. Répandues dans l'environnement, de telles substances peuvent aussi menacer la biodiversité.

Que savez-vous des perturbateurs endocriniens ? Quels sont leurs différents effets sur la santé des animaux et des humains ? Comment les a-t-on découverts ? Comment agissent-ils ? Que connaît-on des expositions et des risques ? Comment informer et comprendre ? Enfin, que pouvons-nous faire?...

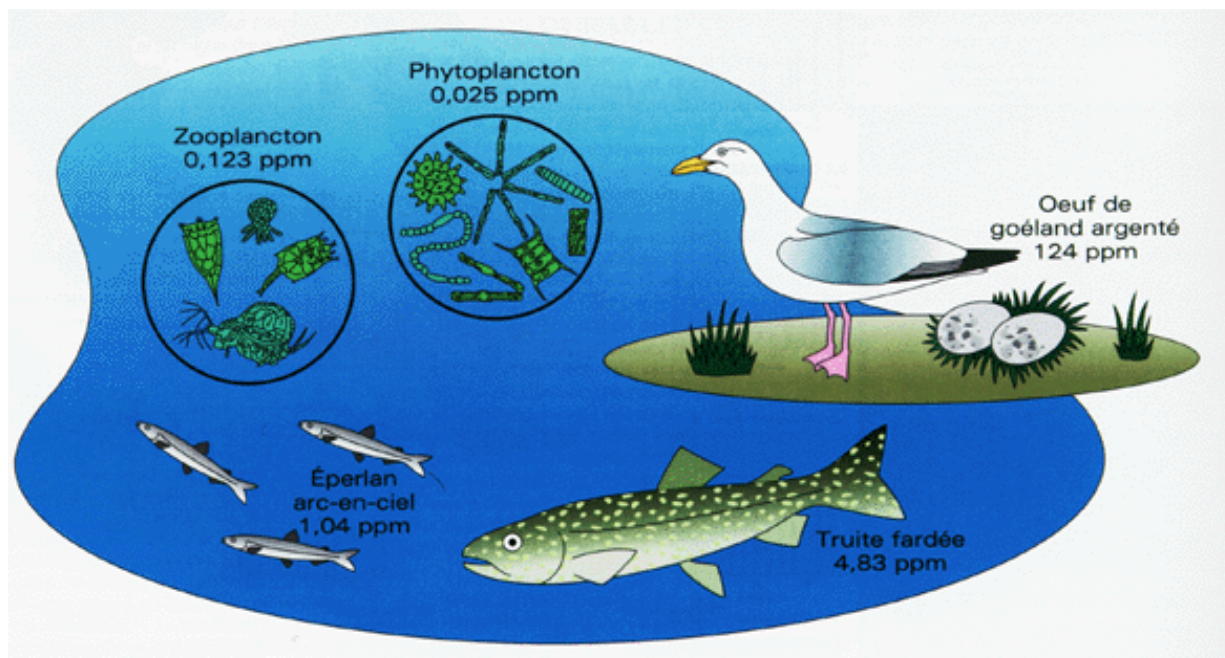
La réalité est complexe et difficile à appréhender. On a identifié des centaines de perturbateurs endocriniens, correspondant à toute une variété de substances chimiques: le parabène dans les cosmétiques (shampoings, crèmes hydratantes, mousses à raser...), le bisphénol A, autrefois présent dans les biberons¹ et encore présent – pour quelques années au moins – dans certains contenants alimentaires à l'intérieur des boîtes de conserve, mais aussi sur des papiers thermosensibles (tickets délivrés par exemple par les caisses enregistreuses), la chlordécone utilisée auparavant dans le traitement contre le charançon du bananier, les phtalates utilisés dans les revêtements de sol en vinyle, etc.

Le concept de « perturbateur endocrinien » (PE) est relativement récent. L'histoire a commencé au lendemain de la Seconde Guerre mondiale. Après avoir reçu une lettre d'une femme qui lui disait que, dans le Massachusetts (États-Unis), le DDT, utilisé comme insecticide, ne s'en prenait pas qu'aux insectes mais tuait les oiseaux, la biologiste américaine Rachel Carson (déjà connue pour ses études sur la vie aquatique) s'est intéressée à la disparition soudaine de l'aigle, symbole de la nation américaine. Elle fait le rapprochement avec le balbuzard pêcheur ou encore le faucon pèlerin. Des scientifiques ont en effet constaté, autour des Grands Lacs d'Amérique du Nord, une diminution importante des populations de ces différents rapaces. La cause incriminée : la nourriture. Ces oiseaux se nourrissent de poissons (anguilles, truites, saumons, poissons volants...). Or, les marais côtiers ont été pulvérisés de DDT et de produits insecticides similaires, pour détruire les moustiques. L'insecticide persiste dans l'organisme et s'accumule dans la chaîne alimentaire, d'où la contamination indirecte de poissons. Rachel Carson expose sa théorie, en 1962, dans un livre intitulé *Silent spring* qui marque, d'après Al Gore, « la naissance du mouvement écologiste »².

Ses travaux s'appuyaient sur des données scientifiques, recueillies auprès de nombreux chercheurs et experts scientifiques. Elle fut la première à s'attaquer au problème posé par les polluants chimiques persistants et sensibiliser une partie de l'opinion publique. Depuis ces années, divers phénomènes ont été observés : les troubles de la reproduction des visons américains et des loutres, la contamination des gastéropodes marins (1972), le développement de poissons hermaphrodites en Grande-Bretagne, le micro-pénis des alligators du lac Apopka en Floride (1988), les défaillances du système immunitaire des phoques gris (1987-1988) et des ours polaires (2003), la disparition des abeilles (2012), etc.

¹ Anses, *Effets sanitaires du Bisphénol A, Connaissances relatives aux usages du Bisphénol A*, rapport d'expertise collective, Edition scientifique, septembre 2011.

² Introduction de la traduction française, Rachel Carson, *Printemps silencieux*, coll. Domaine sauvage, Editions Wildproject, 2009.



Bioaccumulation, la chaîne trophique des Grands Lacs
 (source : Environmental Protection Agency - 1 ppm = 1mg/kg ou 1 mg/L)

C'est parce que ces observations concernant la faune sauvage se sont multipliées, que des scientifiques de disciplines différentes³ se réunissent à Wingspread (Wisconsin, Etats-Unis) en juillet 1991, pour partager leurs interrogations autour de Theo Colborn, spécialiste de la santé environnementale. Ils conjecturent un lien entre les altérations de la reproduction des animaux et celles observées chez une partie de la population humaine. Ils comparent aussi les effets de certains polluants chimiques chez l'animal avec ceux observés chez les femmes traitées par le Diéthylstilbestrol⁴ (DES) tels que l'augmentation de la fréquence des malformations congénitales et des cancers, et la baisse de la fertilité. Pour cette dernière substance, les conséquences de telles perturbations sont graves et pourraient même perdurer sur plusieurs générations. Elles se manifestent non seulement sur les enfants exposés dans la vie intra-utérine, mais peut-être aussi chez leurs enfants ; ainsi, on a rapporté une augmentation du risque d'une malformation des organes génitaux mâles chez les enfants dont la mère avait été exposée au DES pendant sa grossesse. Et si des polluants agissaient de même ? C'est la question posée par Theo Colborn, Dianne Dumanoski et John Peterson Myers dans le livre, publié en 1996 : *Our stolen future*⁵.

À cette époque, l'origine des troubles de la fonction de reproduction alors suspectés, et en partie attribués à des polluants chimiques, dont beaucoup sont d'origine industrielle, était le sujet le plus controversé. Il faut rappeler que certaines de ces substances largement utilisées, présentaient, comme cela a pu être le cas pour le DDT, une efficacité (qui a duré un temps limité) dans la lutte préventive contre les insectes vecteurs de certaines maladies comme le paludisme). Comment de nouveaux composés chimiques (dont certains sont présents dans des produits et articles mis en vente) pourraient-ils provoquer des altérations du développement ? Les scientifiques ont fait le rapprochement avec les hormones qui ont un rôle dans le développement de l'organisme, y compris des organes reproducteurs, à de faibles doses. C'est ainsi qu'on parle d'«endocrine disruptors», expression utilisée pour la première fois lors de la Conférence de Wingspread (1991).

Depuis, de nombreuses équipes de recherche ont démontré que cette notion de perturbateur endocrinien peut être associée à un large spectre de substances chimiques, avec des répercussions variables selon la substance,

³ Anthropologie, écologie, endocrinologie, immunologie, médecine, psychiatrie, toxicologie, zoologie...

⁴ Le diéthylstilbestrol (DES) est un diphénol de synthèse aux propriétés œstrogéniques puissantes, commercialisé en France sous le nom de Distilbène.

⁵ Dianne Dumanoski, John Peterson Myers et Theo Colburn, *L'homme en voie de disparition ?*, Terre vivante, Mens, 1997.

le moment de l'exposition, les co-expositions (c'est-à-dire des expositions à plusieurs substances en même temps) et la dose. Il n'y a toutefois pas aujourd'hui de consensus international sur la définition. Pour l'Union européenne, la définition adoptée en 2002 est celle de l'Organisation mondiale de la santé (OMS) : « Un perturbateur endocrinien potentiel est une substance ou un mélange exogène⁶, possédant des propriétés susceptibles d'induire une perturbation endocrinienne dans un organisme intact, chez ses descendants ou au sein de (sous-)populations. » Comment les perturbateurs endocriniens agissent-ils ? Les scientifiques invoquent plusieurs mécanismes. Par exemple, ces molécules peuvent :

- **Imiter** l'action d'une hormone naturelle. Le perturbateur endocrinien se fixe sur le récepteur cellulaire et entraîne une réponse normale. C'est l'effet agoniste.
- Se lier au récepteur hormonal et **empêcher** l'émission d'un signal. Le perturbateur endocrinien entrave alors l'action des hormones. Il s'agit d'un effet antagoniste.
- **Gêner** ou **bloquer** le mécanisme de production ou de régulation des hormones ou des récepteurs et ainsi modifier les concentrations d'hormones présentes dans l'organisme.

La question de l'effet des perturbateurs endocriniens sur l'homme et de leur possible rôle dans la recrudescence de certaines maladies chroniques, comme le diabète type 2, inquiète scientifiques et pouvoirs publics. Cette préoccupation a eu des répercussions dans la réglementation, conduisant la Commission européenne à définir une stratégie commune et dresser un état de l'art sur l'évaluation des perturbateurs endocriniens. Lors de la Convention de Stockholm⁷, des Organisations Non Gouvernementales (ONG) et des industriels se sont réunis autour des Etats Membres, pour préconiser des actions à court, moyen et long termes. Ils ont insisté sur le principe de précaution. La première liste établie dénombrait alors, parmi les substances produites en fort volume, plus de 553 perturbateurs endocriniens potentiels (œstrogènes, phyto-œstrogènes, hormones naturelles et de synthèse, composés chimiques, pesticides, produits pharmaceutiques...) devant être examinés en priorité.

Depuis, de nombreux programmes de surveillance et de suivi concernant les substances chimiques sont menés aux niveaux national, européen et international. Signée le 22 mai 2001, la Convention de Stockholm a interdit l'usage de onze substances chimiques car leurs résidus pouvaient se retrouver dans l'environnement, puis être absorbés. Il s'agit de certains termiticides (chlordane, heptachlore et mirex), insecticides (aldrine, dieldrine, endrine), l'hexachlorobenzène ou HCB (solvant dans les pesticides), le polychlorodibenzo-*p*-dioxines et dibenzofuranes (PCDD/PCDF), le toxaphène et les polychlorobiphényles (PCB) et restreint l'usage du DDT (en raison du faible bénéfice par rapport au risque). Puis, d'autres substances ont été ajoutées : lindane, chlordécone, endosulfan...

L'Union européenne a lancé peu après un dispositif réglementaire plus vaste sur les produits chimiques. Entré en vigueur le 1^{er} juin 2007, le règlement européen REACH⁸ vise une meilleure connaissance des effets des substances chimiques sur la santé humaine et sur l'environnement. Son but est d'assurer un niveau élevé de protection de la santé humaine et de l'environnement contre les risques que peuvent poser les produits chimiques, tout en renforçant l'esprit d'innovation de l'industrie chimique européenne par la substitution des substances très préoccupantes comme les cancérogènes, mutagènes et toxiques pour la reproduction. D'autre part, au regard des impacts sur la santé humaine et des impacts écologiques, des propositions de mesures ont été déclinées par deux secteurs : les produits de protection des plantes et les biocides.

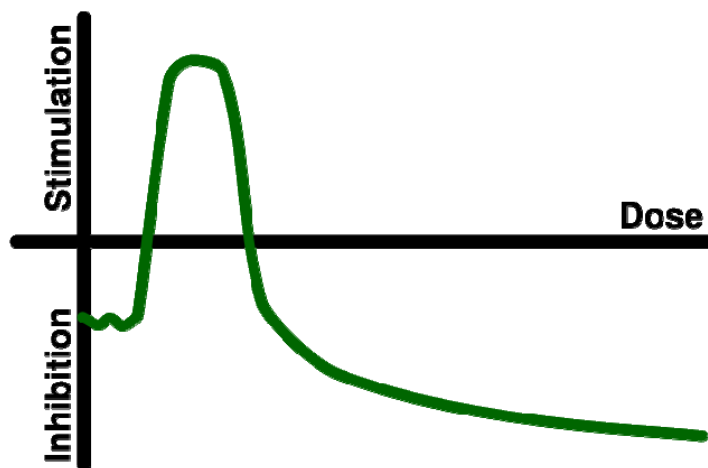
⁶ Etranger à l'organisme vivant.

⁷ Convention de Stockholm sur les polluants organiques persistants :

http://europa.eu/legislation_summaries/environment/air_pollution/l21279_fr.htm

⁸ Le règlement européen REACH porte sur l'enregistrement, l'évaluation, l'autorisation et la restriction des substances chimiques.

La recherche elle aussi est active. A travers une série de mesures visant à les réduire et finalement les éliminer, les différentes parties de la Convention de Stockholm (dont la France) ont engagé des actions visant à renforcer la détection des produits toxiques, la surveillance des milieux de travail et à installer une vigilance sur l'environnement. Parallèlement, les recherches mettent en évidence des effets jusqu'alors inattendus. Ainsi ces dernières années, l'évolution des connaissances a conduit les scientifiques, à un constat paradoxal dans certains cas : « Ce n'est pas la dose qui fait le poison » - remettant en cause le caractère universel du principe de Paracelse⁹ et les notions de seuils et d'acceptabilité. En effet, on observe des exemples où la relation dose-effet dessine une courbe en « U » ou en « U » inversé : forme révolutionnaire qui met en évidence des effets à faibles doses plus forts qu'à dose moyenne. De plus, on observe que la susceptibilité aux effets de certaines substances chimiques exogènes peut varier suivant la période d'exposition de l'organisme humain (vie intra-utérine, enfance, âge adulte). Ces effets rendent la gestion des risques, complexe et difficile.



Courbe en « U » inversé (effet non monotone, p. 13)

Au niveau français, pour partager l'information sur les molécules à tester en priorité, les efforts de recherche fondamentale et appliquée ont été intégrés dans une dynamique internationale avec par exemple, la mise en place du programme SCALE (importance de l'étude sur les nouveau-nés et les enfants) ou du projet EDEN (sur les effets combinés et les expositions aux faibles doses). D'autre part, afin de répondre aux enjeux environnementaux et de santé publique, le Programme National de Recherche sur les Perturbateurs Endocriniens (PNRPE)¹⁰ a été créé en 2005 pour encourager et soutenir la recherche.

Ce programme national a permis de financer trente et un projets de recherche. Le présent fascicule en détaille douze qui illustrent la diversité des recherches engagées sur le sujet.

Plusieurs projets traitent des effets des perturbateurs endocriniens et leurs mécanismes d'action. Une première approche consiste à analyser les liens entre l'exposition à différents polluants environnementaux et le fait d'être atteint de pathologies comme par exemple le diabète de type 1, à travers le suivi de milliers d'individus et le recoupement avec des bases de données contenant des informations sur la pollution (projet présenté p.15).

Une autre approche s'articule autour de la compréhension des mécanismes d'action des perturbateurs endocriniens. Différentes molécules (PCB, phtalates, pesticides, biocides, fongicides, bisphénol A, hydrocarbures aromatiques, mycotoxines etc.) seules ou en mélange, à faible ou forte dose, associées à différents types d'effets (modification du métabolisme, trouble de la reproduction, du développement de divers organes, comportement alimentaire, effets transgénérationnels etc.) font l'objet de cinq projets (p. 17 ; 20 ; 22 ;

⁹ Médecin du XVI^e siècle : « Toutes les choses sont poison, et rien n'est sans poison ; seule la dose fait qu'une chose n'est pas un poison ». Selon cette logique, une substance peut être anodine ou bénéfique à petites doses et toxique à fortes doses ; la notion de perturbateur endocrinien a montré que la dose seule était insuffisante pour prédire l'effet.

¹⁰ Site internet : www.pnrpe.fr

26 ; 28). Les effets biologiques de perturbateurs endocriniens sur des colonies d'abeilles sont également étudiés (p. 30)

Si une molécule s'avère être un perturbateur endocrinien actif, outre la compréhension de son mécanisme d'action, il est nécessaire de connaître la manière dont la population est exposée. La caractérisation des effets biologiques doit donc être complétée par la mesure de la contamination de notre environnement par des substances qu'on soupçonne d'être des perturbateurs endocriniens. Un projet (p. 33) porte ainsi sur la contamination de l'air ambiant par des perturbateurs endocriniens. Dans une autre étude, la possible pollution de l'environnement par le recyclage de boues issues des stations d'épuration est abordée. Il s'agit alors de comprendre les facteurs qui définissent le devenir des micropolluants lors du traitement des eaux usées (p. 35).

Certains projets décrivent la mise au point d'outils pour détecter et caractériser les perturbateurs endocriniens à faibles doses et en mélange. Des exemples de tests sont proposés pour des perturbateurs thyroïdiens et des résidus médicamenteux d'anti-inflammatoires (p. 37 et p. 39).

Enfin, il est également intéressant d'étudier comment la société aborde ces questions. L'un des projets mis en avant est ainsi une étude de sociologie visant à analyser l'histoire de diéthylstilbestrol en France (p. 40).



Les perturbateurs endocriniens : une approche particulière des relations dose-effet

⊙ Faible dose (d'exposition)

La notion de faible dose est d'abord apparue dans le domaine de la radioprotection. Se posait alors la question de possibles effets sanitaires des rayonnements ionisants en dessous des seuils maximum d'exposition définis par la réglementation. Depuis, cette notion s'est élargie à d'autres sources de dangers comme les substances chimiques. On parle généralement de « faibles doses » pour des expositions inférieures à une valeur de référence (par exemple la dose journalière tolérable).

Cette notion est étroitement associée à celle de seuil. Habituellement, en dessous d'un certain niveau d'exposition, les mécanismes de défense de l'organisme évitent des effets sanitaires. On parle alors d'effet de seuil. En dessous du seuil on n'observe pas d'effet sur la santé. Pour certaines substances dangereuses comme des molécules cancérigènes, on observe qu'il n'y a pas d'effet de seuil, donc des effets possibles même à faible dose. Les perturbateurs endocriniens sont fortement suspectés d'agir de même.

⊙ Effet non monotone

« Classiquement (d'après l'Inserm), les effets des substances chimiques sont décrits suivant une courbe dose/réponse monotone (ou linéaire)¹¹. Cependant, pour certains scientifiques, les substances chimiques environnementales telles que le BPA ayant une activité hormonale ne répondraient pas à ce principe et pourraient provoquer à de faibles doses des effets plus importants, voire opposés, à ceux observés à fortes doses ». Ce qui explique que les réponses à ces substances suivent des courbes non monotones : en forme de « U » inversé ou non.

⊙ Fenêtre d'exposition

Depuis « l'affaire du Distilbène », on a découvert que les perturbateurs endocriniens pouvaient agir d'une façon dépendante du temps, ce qui signifie qu'une maladie adulte (Ex. cancer du vagin) peut avoir une origine fœtale.

De manière plus générale, des travaux montrent, qu'à certaines périodes critiques (période prénatale, périnatale, puberté, ...), l'organisme serait particulièrement sensible à certaines substances. L'effet pourrait se faire ressentir beaucoup plus tard. On parle alors de « fenêtre d'exposition » et de « période de latence ».

¹¹ <http://www-dsv.cea.fr/institutes/unite-protection-sanitaire-contre-les-rayonnements-ionisants-et-toxiques-nucleaires-prositon/pour-comprendre/bases-biologiques-de-la-radioprotection/sante-rayonnements-ionisants-et-radionucleides/les-faibles-doses>

Effet de mélanges

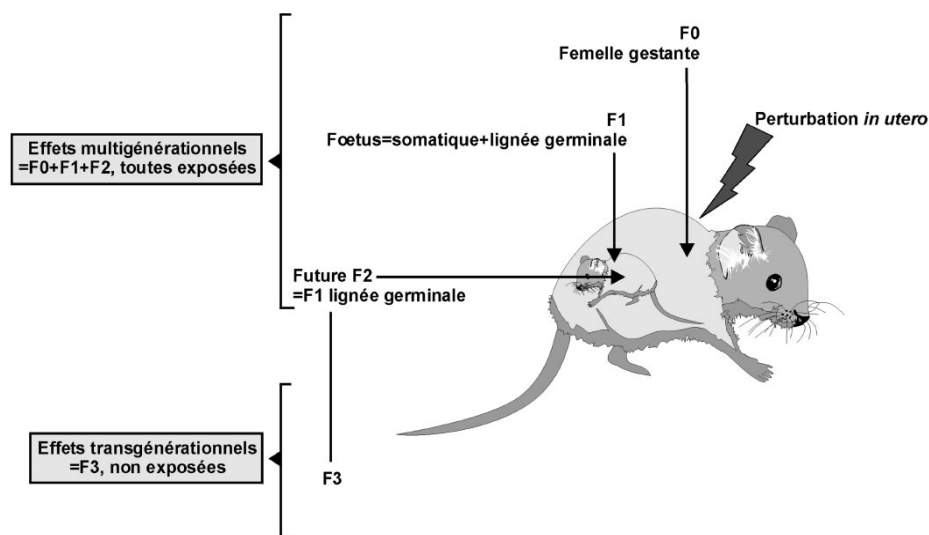
Peu d'études ont abordé jusqu'à présent la problématique des effets de mélanges complexes. Pourtant, deux notions se dégagent :

1. Lorsque des substances ont le même mécanisme d'action, on s'attend à ce que leurs effets s'additionnent. Cela signifie que, si plusieurs molécules sont présentes, l'exposition à prendre en compte est la somme des expositions à ces substances.
2. Dans le cas des perturbateurs endocriniens qui appartiennent à des catégories différentes (avec des mécanismes d'action différents), les effets sont moins prévisibles.

L'approche historique des travaux sur la toxicité était fondée sur la mesure ou le suivi d'un composé isolé. Depuis, les méthodes pour étudier les effets et l'exposition évoluent pour prendre en compte des situations plus proches de la réalité, c'est-à-dire le fait que nous sommes exposés à des mélanges de polluants environnementaux.

Effet sur la descendance

Les recherches réalisées sur plusieurs lignées (animales ou humaines) démontrent que les effets des perturbateurs endocriniens ne se cantonnent pas aux parents exposés mais se transmettent aux générations suivantes. Ces effets délétères (nuisibles à la santé) décrivent des variabilités - les altérations n'étant pas forcément immédiates. D'où l'intérêt des cohortes mères-enfants qui permettent d'observer différentes sensibilités au sein d'une même espèce : voire, au sein d'une même lignée.



(source : Expertise collective Inserm, *Reproduction et environnement*, p. 114)

Diabète de l'enfant

L'exposition aux perturbateurs endocriniens : facteur de risque du diabète de type 1. Analyse de bases de données environnementales.

Alain-Jacques VALLERON et Pierre BOUGNÈRES

Le contexte

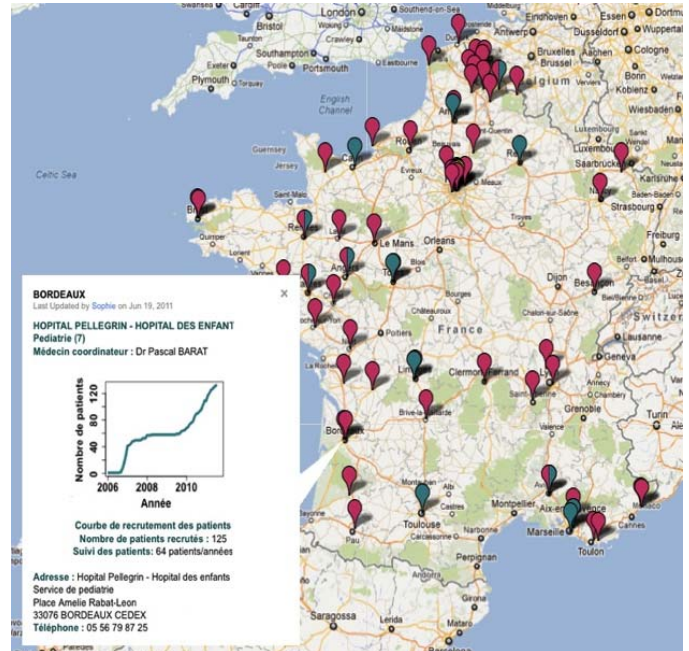
Le diabète de type 1 est une maladie connue aussi sous le nom de « diabète juvénile » ou « insulino-dépendant ». C'est une maladie "auto-immune" (comme la sclérose en plaques, le lupus, la polyarthrite rhumatoïde, etc.) qui détruit les cellules du pancréas produisant l'insuline — hormone qui régule normalement le taux de glucose dans le sang.

30 à 50% des jumeaux vrais d'un diabétique développent à leur tour la maladie. De cette statistique on peut déduire que si la génétique explique une partie de la causalité de la maladie, l'environnement du malade joue également un rôle significatif. De plus, l'augmentation de l'incidence du diabète de type 1 chez les patients les plus jeunes, au cours des deux dernières décennies, met en cause l'environnement plus que la génétique.

Ces facteurs environnementaux sont mal connus ; ils peuvent être aussi bien liés à l'alimentation, au mode de vie, à l'environnement infectieux ou à l'exposition à différents polluants dont les perturbateurs endocriniens.

Les objectifs

Les expositions environnementales varient au cours du temps, certaines diminuent (oreillons, etc.) d'autres augmentent comme les expositions à certains polluants chimiques. L'objectif du projet est de rechercher des différences d'exposition entre des malades et des non malades en étudiant l'ensemble de l'exposition aux toxiques pour lesquels des bases de données environnementales sont disponibles.



*Les services collaborateurs de la cohorte ISIS
(avec la courbe de recrutement d'un des centres)
voir <http://www.isis-diab.org/>*

La méthodologie

Le travail repose sur la cohorte Isis-Diab qui recrute depuis 2008 des patients diabétiques. En Octobre 2012, cette cohorte compte 6002 patients suivis dans 90 services de diabétologie. Environ 4500 d'entre eux ont été sélectionnés pour ce travail ; ils sont géolocalisés à un niveau égal ou inférieur à la rue.

Par mise en correspondance du lieu de résidence (au moment de leur naissance, de leurs premières années de vie, ou du diagnostic de leur maladie) avec l'information contenue dans des bases de données environnementales, on peut caractériser les

expositions des patients à divers polluants. Les bases de données actuellement utilisées sont :

- le **Registre Français des émissions polluantes** (IREP) qui regroupe notamment les données déclarées chaque année par les exploitants industriels. Ces données concernent 92 polluants pour les émissions dans l'eau, 81 pour les émissions dans l'air, 65 pour les émissions dans le sol et 400 catégories de déchets dangereux ;
- **Corine Land Cover**: base de données européenne qui fournit un inventaire biophysique de l'occupation des terres classé en 44 classes. Le territoire national est découpé en carrés de 100mx100m.

Les expositions des patients sont comparées à celles de 100 groupes de 4500 « témoins virtuels » tirés au sort sur le territoire en respectant des critères de comparabilité (classe d'âge, densité de population). La comparaison entre cas et témoins est effectuée en tenant compte des disparités locales socio-économiques (par exemple : revenu médian, éducation, emploi, etc.) qui sont documentées par les bases de données de l'INSEE au niveau de la commune.



Une approche environnementale complémentaire s'appuie sur un questionnaire détaillé –850 questions– rempli par un environ 1200 de patients volontaires.

Les premiers résultats

Aujourd'hui, le dispositif de la recherche est finalisé :

- recrutement des patients et des données cliniques et environnementales (questionnaire) ;
- collection et formatage des bases de données (avec le problème de l'hétérogénéité de leurs normes, de leurs définitions géographiques, de leurs périodes de collecte) ;
- méthodologie de tirage des témoins virtuels.

Un post-doctorant statisticien vient de rejoindre l'équipe. Les premiers résultats obtenus montrent des différences significatives entre les expositions des cas et des témoins. Il est néanmoins prématuré de les publier avant un lourd travail de validation.

Les partenaires :

Alain-Jacques Valleron

Université P. er M. Curie, Inserm, Hôpital Saint-Antoine (Paris)

Pierre Bougnères

Université Paris Sud, Inserm ; Hôpital Kremlin Bicêtre

Equipe

D Baker, N Todd (PNRPE/ UPMC)

S. Le Fur, S. Valtat, S. Meurisse, N. Mai (APHP)

Soutiens financiers

Alliance Inserm-NovoNordisk, PHRC

Collaborations

Marc Lathrop (CNG)

Durée : 36 mois

Soutien : 150000 €

Contact : Alain-jacques.valleron@upmc.fr

🕒 PCB, diabète de type 2 et obésité

Approches cellulaire, moléculaire et expérimentale de l'effet des polychlorobiphényles (PCB) sur la biologie de l'adipocyte : implications dans le diabète et l'obésité

Mlle Aurélia MESNIER, Dr. Pierre-Henri VILLARD et Dr. Gilles NALBONE

Le contexte

Les polluants organiques persistants (POP) sont des substances qui sont difficilement détruites dans l'environnement et qui s'y stockent. Ils contaminent aussi les organismes vivants et s'accumulent tout au long de la chaîne alimentaire (les molécules sont ingérées par de petits organismes qui sont mangés par de plus gros et ainsi de suite...). A mesure qu'ils remontent la chaîne alimentaire, leur concentration dans les tissus augmente. Cette augmentation est préoccupante dans la mesure où ces molécules produisent des effets toxiques à long terme.

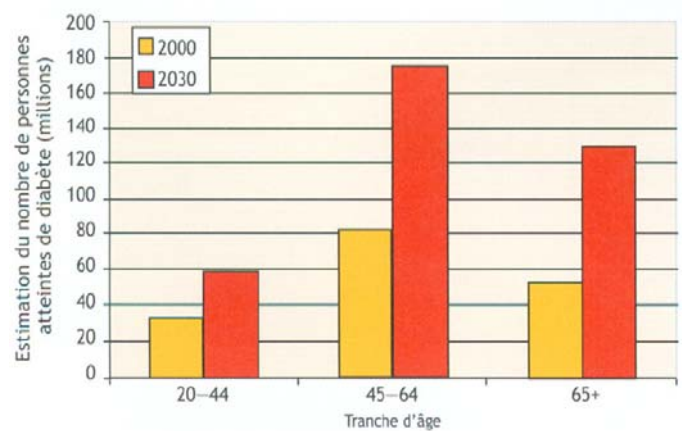
Les PCB sont l'exemple type de ces POP auxquels nous sommes tous exposés à des degrés divers. La principale source d'exposition correspond aux produits d'origine animale que nous consommons, notamment les poissons. Les PCB n'étant quasiment pas métabolisés (c'est-à-dire dégradés puis éliminés) par notre organisme et possédant une grande solubilité dans les graisses, ils s'accumulent dans notre tissu adipeux et peuvent diffuser dans le lait maternel.

Au cours des dernières décennies, on observe au sein de la population mondiale, une augmentation constante de ce qu'on appelle les maladies métaboliques :

- **Diabète de type 2 ;**
- **Obésité.**

Les prévisions de l'augmentation du diabète de type 2 entre 2000 et 2030 sont impressionnantes comme le montre la figure ci-contre et, d'ores et déjà, l'ordre de grandeur de la population atteinte est 5 % de la population mondiale. Cette véritable pandémie

(épidémie touchant l'ensemble de la planète) ne peut être simplement expliquée par l'historique familial des patients (particularités génétiques) et par la modification du mode de vie (régime alimentaire trop riche associé à un manque d'exercice physique). Les études épidémiologiques suggèrent un rôle majeur de l'environnement et plus particulièrement l'exposition de la population à des perturbateurs endocriniens tels que les PCB.



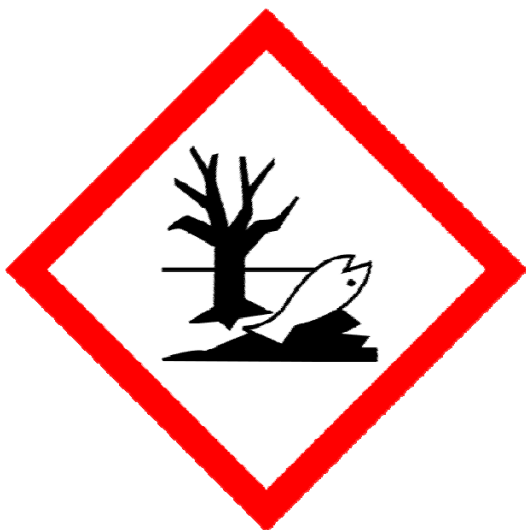
Estimation du nombre de personnes atteintes de diabète type 2 par tranche d'âge dans le monde. Plus de 300 millions de personnes seraient atteintes en 2030.
(source : Helfenstein et al., 2006)

Les objectifs

Ce projet s'appuie sur des données épidémiologiques, notamment celles recueillies aux Etats-Unis lors de l'enquête *National Health and Nutrition Examination Survey* (NHANES) conduite de 2005 à 2008. Celles-ci montrent une forte association entre l'exposition alimentaire aux PCB et le diabète de type 2.

Cependant les mécanismes biologiques qui seraient à l'origine de l'effet des PCB demeurent méconnus.

Il existe deux types de PCB, les PCB dits « dioxin-like » qui présentent des effets proches des dioxines, et les PCB non dioxin-like. Ces deux types de PCB, qui peuvent avoir des effets différents, ont été étudiés, seuls ou associés, à faible et forte doses.



Pictogramme GHS

La méthodologie

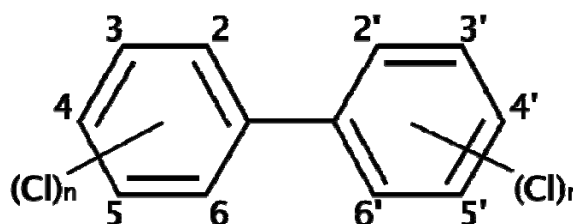
L'étude met en œuvre deux approches complémentaires. La première a été entreprise chez la souris. Il s'agissait d'étudier les modifications des paramètres biologiques sanguins (glycémie, taux de lipides) induites par l'exposition aux PCB ainsi que la modulation de l'expression des gènes dans des tissus d'intérêt (foie, tissu adipeux, muscle et colon). La seconde a été réalisée *in vitro* au moyen de cultures cellulaires d'adipocytes humains (cellule de stockage de la graisse qui sont donc les lieux de stockage du PCB). Ce modèle permet d'étudier chez l'homme l'effet des PCB sur la maturation de ces cellules.

Les effets observés

Les résultats obtenus chez la souris après un mois d'exposition ne montrent pas de modification ni de la glycémie, ni du taux de cholestérol total et LDL, ni des phospholipides circulants. Seule une augmentation modérée des triglycérides a été observée.

En ce qui concerne la modulation de l'expression des gènes (c'est-à-dire la « décision » de la cellule de fabriquer telle ou telle molécule), il a été observé, comme précédemment décrit dans la littérature scientifique, une fabrication des enzymes impliquées dans la destruction de molécules venant de l'extérieur de l'organisme (telles que les polluants ou les médicaments), notamment dans le foie. Parmi ces enzymes, les cytochromes P450 sont connus d'une part pour transformer des polluants environnementaux en dérivés pouvant potentiellement induire des cancers, et d'autre part produire des molécules oxydantes (agressives) qui participent à l'inflammation. L'exposition aux PCB semble donc être de nature à augmenter la susceptibilité des individus aux effets cancérigènes de certaines molécules telles les hydrocarbures aromatiques polycycliques (goudrons) du fait de la présence des cytochromes P450 et à induire une inflammation des tissus.

L'analyse de la manière dont les gènes sont actifs montre également la perturbation de différents gènes participant à l'action de l'insuline (hormone libérée par le pancréas pour diminuer la glycémie et la normaliser), notamment dans le foie, le tissu adipeux et le muscle. D'autres gènes participant à la régulation du métabolisme du glucose et des lipides sont également dérégulés, dans le foie et le tissu adipeux. Il est intéressant de noter que, généralement, les effets sont plus marqués avec les faibles doses, ce qui est caractéristique de l'action des perturbateurs endocriniens. Le diabète de type 2 se caractérise par une hyperglycémie, associée à la perte progressive de la capacité de l'insuline à jouer son rôle. La dérégulation de l'expression de cette batterie de gènes pourrait donc en partie expliquer l'augmentation de l'incidence du diabète de type 2 chez les sujets exposés aux PCB.



Structure chimique des polychlorobiphényles (PCB)

Les expériences entreprises *in vitro* sur des pré-adipocytes humains ne montrent pas de modification de la maturation de ces cellules. Des analyses génomiques sont en cours pour évaluer si les modifications du fonctionnement des gènes observées dans ce modèle cellulaire sont compatibles avec les résultats obtenus chez la souris.

Les conclusions

Les résultats montrent que l'exposition aux PCB ne se traduit pas par une modification marquée d'une voie métabolique donnée. Toutefois, il a été observé dans différents tissus cibles, dont le foie et le tissu adipeux, une modulation de l'expression de différents gènes impliqués dans la régulation de la glycémie et des lipides. Il est important de noter que les effets étaient généralement plus marqués lors des expositions aux faibles doses, notamment dans le tissu adipeux.

De plus, la fabrication des cytochromes P450 induite par les PCB pourrait induire une légère inflammation tissulaire qui favoriserait le développement des maladies métaboliques, voire renforcer les effets cancérigènes d'autres polluants.

Les partenaires :

Dr. Pierre-Henri Villard

UMR 1260 Inra

Dr. G. Nalbone

UMR 626 Inserm

Durée : 36 mois

Soutien : 135000 €

Contact : pierre.villard@univ-amu.fr

🕒 Perturbateurs endocriniens et métaboliques

Modulateurs environnementaux de l'activité de l'hétérodimère RXR-PPAR gamma. Étude de leur mécanisme d'action en lien avec les effets endocrines, de leur métabolisme et de leur présence dans des matrices environnementales et alimentaires.

Patrick BALAGUER

Le contexte

La formation de tissu adipeux (masse grasse corporelle) dans l'organisme humain est le mécanisme principal par lequel celui-ci constitue une réserve énergétique sous forme de lipides. C'est ainsi que sont stockés des excédents de l'alimentation : aliments gras, sucrés ou féculents.

Des études récentes suggèrent que certains perturbateurs endocriniens pourraient également exercer le rôle de perturbateur métabolique, notamment en modifiant le contrôle de la production de tissus adipeux et de la balance énergétique. Parmi les polluants suspectés de jouer un tel rôle, les **phthalates**, les **organoétains**, les composés **perfluorés**, le **bisphénol A** et ses dérivés halogénés.

Comment agiraient-ils ? En se liant à des protéines de la famille des **récepteurs nucléaires**, nommés PPAR γ , RXR α et ER α qui, une fois « activés » déclenchent une cascade d'évènements qui influence la machinerie qui commande l'expression de nos gènes, en quelque sorte la programmation de la cellule.

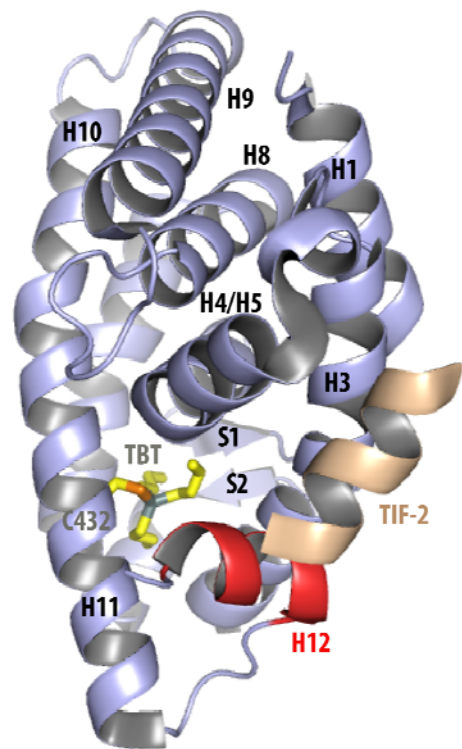
Ces perturbateurs métaboliques facilitent l'activation de ces **récepteurs nucléaires** ou au contraire la bloquent.

Les objectifs

L'objectif du projet est en trois volets :

- Etudier le mécanisme d'activation des récepteurs nucléaires PPAR γ , RXR α et ER α par diverses molécules ;

- Rechercher et identifier la présence de ces molécules ou de produits issus de leur transformation dans des échantillons environnementaux, alimentaires et biologiques ;
- Etudier de façon détaillée la manière dont ces molécules se lient aux récepteurs nucléaires PPAR γ , RXR α et ER α .



Structure du domaine de liaison au ligand (LBD) de RXR α (en bleu, l'hélice d'activation H12 est colorée en rouge) en complexe avec le tributylétain (TBT, en jaune) et un fragment du coactivateur TIF-2 (en beige). La liaison covalente entre le TBT et la cystéine 432 est montrée.

(source : William Bourguet)

La méthodologie

Pour cela, l'équipe de recherche de Patrick Balaguer (INSERM Montpellier) modifie des cellules pour leur conférer la particularité de devenir lumineuses, lorsque PPAR γ , RXR α et ER α sont activés. Cela permet de suivre de manière très simple le taux d'activation de ces récepteurs. Les travaux consistent ensuite à observer les modifications induites par différents polluants sur le comportement des récepteurs nucléaires.



Un autre volet du projet consiste à étudier à l'échelle moléculaire comment les perturbateurs métaboliques (et en particulier, le tributylétain (peinture anti salissures), le tétrabromo bisphénol A (retardateur de flamme), le MEHP (phtalate) et le PFOA (composé perfluoré présent dans les revêtements de poêles) se lient à RXR α , PPAR γ ou ER α . Pour cela, les chercheurs ont collaboré avec l'équipe de William Bourguet (INSERM, Montpellier) qui a réalisé des cristaux des complexes récepteurs - perturbateurs métaboliques et analysé aux rayons X leur structure avec une résolution atomique.

Les effets observés

- Observation de l'effet de certaines molécules environnementales sur les récepteurs RXR α , PPAR γ et ER α (donc mise en évidence de leur capacité à interagir sur le métabolisme) ;
- Détermination de la manière dont ces molécules interagissent avec les récepteurs nucléaires au niveau moléculaire.

Les conclusions

Ces travaux montrent la façon dont plusieurs molécules présentes dans l'environnement interagissent avec certains récepteurs nucléaires et ouvrent la voie à la compréhension du mécanisme par lequel des polluants peuvent perturber le métabolisme. Il s'agit d'études de base visant à mettre en évidence des mécanismes d'action, et celles-ci doivent être complétées par d'autres études mettant en relation des maladies métaboliques avec la présence de ces polluants.

Les partenaires :

Patrick Balaguer

Institut de Recherche en Cancérologie de Montpellier (IRCM) – Inserm U896, UM1, CRLC Val d'Aurelle, Montpellier

Daniel Zalko

Inra, Toulouse

Barbara Demeneix

MHN-CNRS, Paris

Durée : 3 ans

Soutien : 26416 €

Contact :

patrick.balaguer@montpellier.unicancer.fr

🕒 Exposition continue à des mélanges de perturbateurs endocriniens

Exposition continue à des mélanges de perturbateurs endocriniens à doses environnementales : impact sur la reproduction, le développement et le comportement alimentaire

Marie-Chantal CANIVENC-LAVIER

Le contexte

A travers l'air qu'il respire, mais aussi la nourriture et les médicaments qu'il absorbe, l'homme est exposé simultanément à divers perturbateurs endocriniens (PE). Le plus souvent, cette exposition est compatible avec les doses réglementaires autorisées, c'est-à-dire à des doses considérées comme sans effets car elles sont 1000 fois plus faibles que les doses définies lors des études toxicologiques en vigueur. Cette marge de sécurité repose sur l'adhésion au principe effet/dose qui considère que « la dose fait le poison » (figure a). Or, on sait maintenant que des doses inférieures à la dose dite « sans effet » peuvent exercer des effets délétères sur divers organes, et on parle alors d'effets-doses selon des courbes en U (figure b).

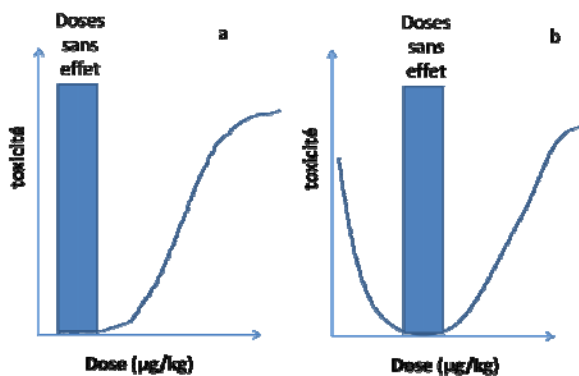


Figure 1: Relation entre la dose d'exposition et l'effet toxique

Les études expérimentales identifient de telles courbes doses/réponses et confirment l'existence d'effets faibles doses de PE sur le développement et sur le comportement d'animaux de laboratoire, des effets qui rappellent ceux observés lors d'études écotoxicologiques dans certaines régions polluées.

De plus, pour une dose donnée, on peut avoir un effet sur un organe, mais pas sur un autre, et il faut considérer l'individu entier dans l'étude des effets toxicologiques. On parle alors d'*études intégratives*.

Depuis une dizaine d'années, de plus en plus de chercheurs montrent que l'exposition simultanée à plusieurs PE à faibles doses peut modifier l'intensité des effets nocifs propres à chaque PE, voire les faire disparaître et/ou en faire apparaître de nouveaux. Autrement dit, un plus un ne ferait pas toujours deux. En parallèle des études toxicologiques menées pour une molécule X, on doit donc aussi s'interroger sur les effets produits par l'exposition simultanée de la molécule X avec d'autres molécules Y, Z, ..., et considérer les effets de ces cocktails sur plusieurs organes (reprotoxicité, anomalies du développement, comportement...).

Parmi les questions majeures que se pose le scientifique, celles de *l'effet d'une exposition prolongée à des mélanges de PE depuis la conception jusqu'à l'âge adulte, et de la possibilité que ces expositions aient des répercussions sur la descendance d'individus non exposés* constituent l'essentiel de la problématique soulevée dans ce projet.

Les objectifs

Le système endocrinien agit comme un chef d'orchestre pour coordonner la formation des organes et la mise en place des grandes fonctions physiologiques, et ceci dès les premiers jours de la conception jusqu'à la fin de notre vie. Il est en relation étroite avec notre cerveau (on parle de système

neuroendocrinien) pour maintenir notre corps dans un état d'équilibre physiologique sain et lui permettre de réagir à différents événements de la vie, comme la grossesse ou le vieillissement, mais aussi aux divers événements occasionnés par notre environnement ou notre mode de vie (stress, émotions, variations de température, etc.). C'est pourquoi les perturbateurs endocriniens peuvent agir à tous niveaux et à tous stades. Cependant, certaines périodes de la vie, comme la période utérine, semblent plus sensibles que d'autres : on parle de « fenêtre d'exposition à risque ».

Dans ce projet, il est question d'explorer les effets de mélanges de PE sur plusieurs générations, en considérant des cibles biologiques différentes et adaptées à chaque âge pour essayer de mieux comprendre comment agissent des PE, en particulier ceux qui interfèrent avec les hormones sexuelles.

- Quels sont les effets sur le comportement, en particulier sur le comportement maternel ou sur le comportement alimentaire ?
- Quels sont les effets sur le développement de divers organes en fonction de l'âge, en particulier lorsqu'ils sont mélangés et absorbés dès le stade embryonnaire ?
- Les communications entre ces différents organes sont-elles perturbées ?
- Y a-t-il des effets qui pourraient se transmettre d'une génération à l'autre ?

Plusieurs équipes participent à ce projet qui regroupe des médecins et des chercheurs apportant chacun des outils et des compétences spécifiques sur l'appareil reproducteur, la glande mammaire, l'os, la dent, le tissu adipeux, les glandes salivaires, le cerveau, le comportement alimentaire... Ces différentes cibles présentent des voies de régulation communes, mais communiquent aussi entre-elles, souvent sous le contrôle du système endocrinien. Mieux comprendre ces mécanismes permettra de relier les effets entre eux, et peut-être de définir des marqueurs biologiques d'exposition.

La méthodologie :

Les molécules : Pour tenter de répondre à ces questions, des cocktails « sur mesure » ont été fabriqués en se plaçant dans des conditions d'expositions encore plus proches de l'exposition environnementale et humaine. Trois substances reconnues pour leurs effets œstrogéniques et anti-androgéniques ont été utilisées :

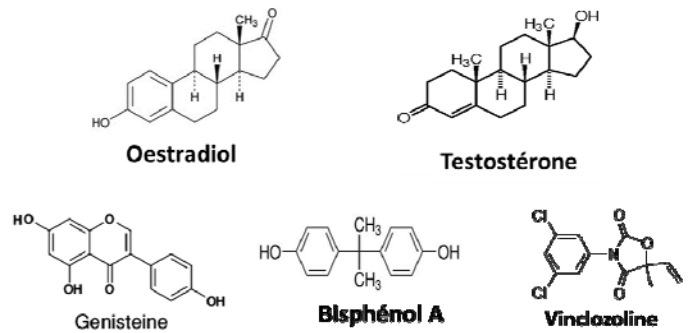


Figure 2: Comparaison des structures chimiques des hormones sexuelles et des molécules

- **La génistéine (GEN)** : une molécule naturellement présente dans certaines plantes comme le soja et classée parmi les phytoestrogènes les plus actifs pour corriger la baisse d'œstradiol au cours de la ménopause (phytothérapie).
- **Le bisphénol A (BPA)** : une molécule de base pour la fabrication de certains emballages alimentaires et matériaux médicaux en plastique, mais qui entre aussi dans la composition de résines utilisées comme pansements dentaires. Le BPA est classé parmi les « œstrogéno-mimétiques » à faible potentiel car ses effets physiologiques sur les organes reproducteurs femelles sont environ 1000 fois plus faibles que ceux de la génistéine, et 100.000 fois plus faibles que l'œstradiol.
- **La vinclozoline (VIN)** : interdit en Europe depuis 2005, ce fongicide encore utilisé en agriculture dans certains pays, en particulier dans les cultures maraîchères et viticoles. Il est classé comme un reprotoxique car il s'oppose aux effets des androgènes, dont la testostérone.

Cette sélection repose sur les données d'une étude précédente menée chez le rat (PNR-PE 2005, CS J Auger), qui avait montré que la génistéine et la vinclozoline administrées en mélange altéraient de manière plus prononcée les fonctions reproductives masculines, mais aussi le développement (malformations osseuses) et le comportement (préférences gustatives), aux plus faibles doses testées (de l'ordre mg/kg de poids corporel). Quant au BPA, outre le fait que nous y sommes quotidiennement exposés, plusieurs études relèvent des troubles de la reproduction¹² et du comportement, mais aussi des troubles métaboliques associés à l'obésité chez l'animal, et ceci pour des **doses** inférieures aux **doses** autorisées.

Les modèles biologiques : Pour étudier ces effets, on dispose de « modèles expérimentaux » qui permettent de simuler des expositions environnementales ou alimentaires de mélanges dans des conditions qui se rapprochent de celles de l'exposition humaine globale en termes de doses quotidiennes absorbées et de durée de l'exposition.

- **un modèle « in vivo » utilise le rat** pour réaliser une étude intégrative qui permettra d'évaluer simultanément sur plusieurs organes l'apparition d'éventuels effets à faibles doses à différentes périodes de la vie ; comme le rat atteint l'âge adulte au bout de 3 mois, cela permet de suivre facilement les effets successifs sur le développement et sur le comportement sur plusieurs générations. Pour mimer l'exposition alimentaire, les mélanges sont déposés dans la bouche.

- **des modèles « in vitro » de cultures de cellules** issues de l'os, de la dent, du tissu adipeux ou des glandes salivaires d'origine humaines ou animales, sont plus appropriés à l'étude des mécanismes de régulations impliqués dans la perturbation endocrinienne de l'organe ciblé, et permettent de diminuer l'utilisation des animaux.

Les outils de mesure : Les effets sur le comportement reposent sur l'observation d'un ensemble d'attitudes (comportement maternel) ou de choix (tests gustatifs). Des dosages sanguins couplés à des analyses en microscopie, biochimie et biologie

moléculaire permettent d'observer des effets jusqu'à l'échelle de la cellule et d'identifier ainsi des effets sur les organes ou les tissus.

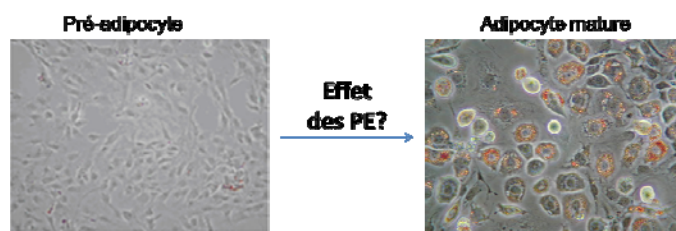


Figure 3: Utilisation de culture de cellules pour étudier les effets des PE sur la formation du tissu gras

Les effets observés :

Ces travaux confirment bien que plusieurs perturbateurs endocriniens absorbés en même temps peuvent affecter le développement d'animaux exposés dès la conception via la mère, puis tout au long de leur vie via l'alimentation.

Les effets observés rappellent ceux décrits lors des études de perturbateurs endocriniens sur le comportement, les préférences gustatives, le développement corporel (Ex. surpoids, défauts du squelette...) et sur l'appareil reproducteur (anomalies du testicule, avortements spontanés).

Toutefois, pour un mélange donné, on peut ne pas avoir d'effet sur une cible (Ex. le comportement) mais avoir un effet prononcé sur une autre (Ex. appareil reproducteur). Ces effets varient aussi selon la composition du mélange : les effets de mélanges contenant de la Vinclozoline varient suivant qu'elle est co-administrée avec la génistéine ou le BPA, et curieusement, le mélange contenant les trois n'est systématiquement pas le plus toxique.

Mais surtout, ces travaux mettent en évidence des effets qui se déclarent à la génération suivante alors qu'elle n'a jamais été directement exposée puisque les traitements ont été arrêtés avant la mise en couple des parents. Ces effets peuvent apparaître sur des progénitures dont les parents sont apparemment « normaux » ; on parle d'effets épigénétiques possibles.

¹² Voir avis de l'ANSES <http://www.anses.fr/Documents/PRES2011CPA25.pdf>

Ce sont des effets qui ne touchent pas notre matériel génétique, mais le matériel qui permet à ce gène de s'exprimer : à la différence d'une mutation, qui modifie de manière irréversible la composition de l'ADN, les effets épigénétiques peuvent altérer la manière de lire ou de décoder l'ADN. Les hormones sexuelles peuvent être responsables de tels effets, qui sont réversibles et transitoires : c'est comme un moyen de s'adapter à l'environnement. De la même manière, les perturbateurs endocriniens pourraient agir sur ces voies de régulation et rendre certains gènes « silencieux ». Des études sont en cours pour identifier la présence de tels effets.

L'utilisation de modèles in vitro a permis de reproduire une partie de ces effets sur des cultures de cellules et d'identifier des effets sur les processus de différenciation des tissus. Ces outils vont permettre de poursuivre l'étude des mécanismes en limitant l'utilisation des animaux. Par exemple, quel est l'effet des mélanges sur la formation des cellules du cartilage osseux ou de la dent, ou encore sur les fonctions du tissu adipeux ? Les travaux en cours devraient permettre de comparer les réponses entre des cellules de rongeurs et des cellules humaines, et donc de juger de la pertinence d'une extrapolation à l'homme des résultats sur le rongeur. Les études sont en cours.

Les conclusions :

Les premiers résultats confirment l'action des PE en mélanges à des doses faibles sur plusieurs tissus et organes impliqués dans plusieurs processus physiologiques allant de la reproduction au comportement et identifient des effets qui se transmettent d'une génération à l'autre. Cependant, les résultats des analyses en cours montrent que même si les effets varient, selon la composition du mélange, il semble qu'il soit difficile de prédire leurs effets sur la base des données toxicologiques propres à chaque molécule.

Ces travaux contribuent à l'élaboration de données nécessaires aux pouvoirs publics pour développer des mesures de gestion des risques associés à des mélanges : effets combinés potentiels (infertilité, obésité, troubles du développement et du comportement...). Ils devraient déboucher sur des connaissances directement utilisables pour établir des diagnostics d'exposition.

Les partenaires :

M.C. Canivenc-Lavier

CSGA, UMR 1324, Inra Dijon

J. Auger

Hôpital Cochin, AP-HP, Paris

M. Applanat

Inserm U553, Hôpital St Louis, Paris

J.F. Savouret

Inserm UMRS-747 Université Paris Descartes

A. Berdal

Inserm U566, CEA, Université Paris 7

C. Héliès

Toxalim, UMR 1331, Inra Toulouse

Durée : 40 mois

Soutien : 289422 €

Contact : canivenc@dijon.inra.fr

Hydrocarbures aromatiques

Caractérisation des voies de signalisation impliquées dans les effets estrogéniques/anti-estrogéniques des hydrocarbures aromatiques

Olivier FARDEL

Le contexte

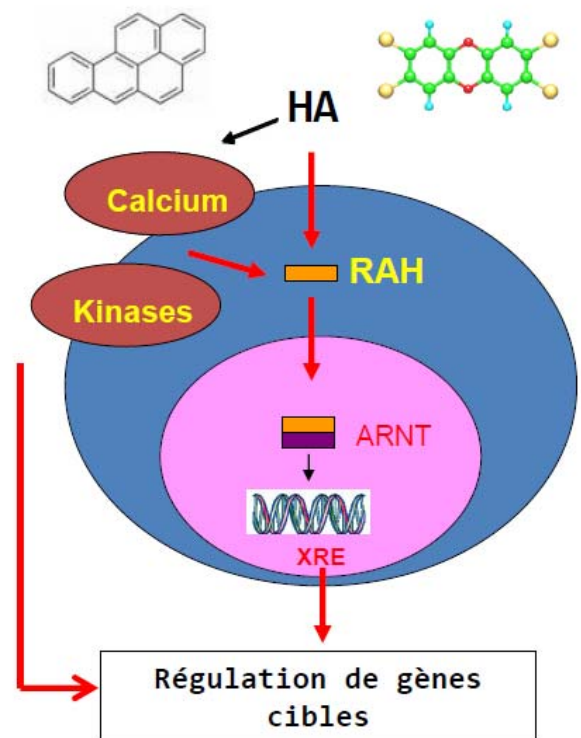
Parmi les principaux contaminants de l'environnement figurent les hydrocarbures aromatiques. Les chimistes appellent ainsi des hydrocarbures dont les molécules contiennent des cycles hexagonaux analogues à la molécule de benzène. Leurs effets sur la santé peuvent être divers et désastreux. Parmi eux, on distingue :

- **La dioxine d'origine industrielle** (expositions chronique et accidentelle, ex. Seveso en 1976) ;
- **Les hydrocarbures aromatiques polycycliques** tels que le benzo(a)pyrène classé « cancérigène pour l'homme », présent dans les fumées de combustion, les gaz d'échappement, etc.

Ces molécules pénètrent dans le corps par voie respiratoire et/ou digestive et sont transportées jusqu'à l'intérieur des cellules. Qu'elles contiennent un ou plusieurs cycles, ce sont des perturbateurs endocriniens qui agissent sur la régulation de certains gènes via des interactions complexes. Pour cela, elles interagissent avec des protéines spécifiques qui jouent un rôle dans le contrôle de l'expression des gènes, notamment le **récepteur des hydrocarbures aromatiques (RAH)** et le **récepteur α aux estrogènes**. La fixation de ces molécules sur ces récepteurs entraîne ce que les biologistes appellent leur activation, qui déclenche une cascade d'évènements. En bout de chaîne le fonctionnement de molécules cibles des hormones naturelles est modifiée, ce qui entraîne des effets sur la fertilité et la reproduction.

Les objectifs

Ce projet de recherche vise à améliorer notre compréhension du mécanisme général d'action des hydrocarbures aromatiques, et en particulier des évènements non-génomiques qui sont schématisés dans la figure :



Activation du récepteur
(source : Olivier Fardel)

- **Les protéines kinases** modulent les molécules cibles. Elles jouent aussi un rôle dans l'activation du RAH ;
- **Les flux calciques** régulent les gènes cibles des hydrocarbures aromatiques.

Ces évènements participent à l'activation du **RAH et/ou du récepteur α aux estrogènes par les hydrocarbures** ou au moins la modulent et régulent aussi les gènes cibles. Ils sont par conséquent susceptibles de jouer un rôle majeur dans les effets hormonaux des hydrocarbures aromatiques.



Les gaz d'échappement

La méthodologie

Pour mieux cerner la place des évènements non-génomiques dans les mécanismes d'activation par les hydrocarbures du **RAH et du récepteur aux estrogènes**, l'équipe devra analyser les cascades d'évènements induites par ces contaminants. Le projet vise par conséquent à :

- **Identifier** des protéines kinases impliquées dans l'activation du RAH par les hydrocarbures
- **Analyser** les mécanismes d'activation des flux calciques par les hydrocarbures
- **Comprendre** la cascade d'évènements impliquant kinases et flux calciques et influant l'activation des récepteurs par les hydrocarbures
- **Déterminer** les conséquences de cette activation sur l'expression/modulation de certains gènes, en particulier hormonaux

Les effets observés

Les résultats obtenus conduisent :

- à une meilleure connaissance, sur le plan fondamental, des mécanismes moléculaires qui induisent des effets des hydrocarbures simulant ceux d'hormones (œstrogènes).
- à la découverte de nouveaux modes d'action des hydrocarbures, notamment en relation avec le système hormonal adrénergique (lié cette fois à l'adrénaline).

Les conclusions

Les données obtenues permettent de mieux caractériser les effets endocriniens des hydrocarbures et devraient à terme permettre de mettre en place des stratégies thérapeutiques pour les contrecarrer.

Les partenaires :

Olivier Fardel

IRSET/INSERM U1085, Université de Rennes 1

Collaboration :

Patrick Balaguer, Institut de Recherche en Cancérologie de Montpellier (IRCM), INSERM U896, Université de Montpellier 1

Durée : 36 mois

Soutien : 72000 €

Contact : olivier.fardel@univ-rennes1.fr

🕒 Mycotoxines et tissus hormono-dépendants

Effets à long terme de la mycotoxine zéaralénone sur le développement pathologique de tissus hormono-dépendants : testicule, prostate, glande mammaire

Mohamed BENAHMED

Le contexte

Les mycotoxines (gr. *mukos*, champignon) sont des substances chimiques toxiques produites par des moisissures. Certaines de ces moisissures se développent en période humide dans les cultures de céréales. C'est un sujet qui reste d'actualité : « Cette année, rares sont les silos de maïs qui ne présentent pas de mycotoxines. Nous observons des contaminations supérieures de 20 à 30 % par rapport aux années précédentes »¹³. Diluées dans le fourrage, ces toxines peuvent contaminer les animaux nourris avec des grains de blé ou de maïs (porcs, vaches...) et entraînent des variations hormonales, des problèmes cutanés ou digestifs.

Si la plupart des mycotoxines semblent être détruites lors de la digestion, il y a des exceptions, notamment la zéaralénone (ZEA) qui résiste à la flore bactérienne du tube digestif. Cette substance « mime » l'action des œstrogènes et peut entraîner chez les animaux, des problèmes de reproduction, allant jusqu'à l'infertilité et l'avortement spontané ; c'est un « leurre hormonal ».

Les objectifs

Ce projet cherche à établir quels sont les risques que présente la ZEA pour l'homme, dans la mesure où elle peut être absorbée notamment via la consommation de céréales (Ex. céréales du petit-déjeuner, pain pâtes...).

Si cette substance présente une toxicité aiguë faible, les scientifiques s'interrogent sur ses effets à long terme sur les tissus hormono-dépendants.

La méthodologie

Comment apprécier le danger que représente la présence de ZEA dans l'alimentation ? L'équipe de recherche propose de :

- Développer un modèle expérimental d'animaux exposés à la ZEA durant des périodes de vulnérabilité (fœtale et néonatale) et analyser les éventuelles atteintes survenant à l'âge adulte dans le testicule, la prostate et la glande mammaire ;
- Décrypter les mécanismes d'action ;
- Identifier des biomarqueurs (c'est-à-dire des molécules attestant la présence d'un phénomène) chez l'animal adulte des altérations provoquées par la ZEA ;
- Utiliser ces biomarqueurs sur des échantillons issus d'une banque de tissus humains afin de faire le lien entre l'exposition à ces mycotoxines et les pathologies en questions, notamment les pathologies testiculaires et prostatiques.

L'une des conséquences de cette étude serait de confirmer/infirmier l'hypothèse selon laquelle l'environnement prénatal et périnatal (riche en molécules de type estrogénique) influe

Inserm U1065, Nice

¹³ Emmanuel Pruvost cité par Robin Vergonjeanne, [Mycotoxines dans les ensilages de maïs- Une année à risque pour la \(re\)production](#), Web-agri.fr, 2 avril 2012

sur les probabilités d'être atteint par une maladie de la sphère urogénitale plus tard dans la vie.



*Les céréales alimentaires
(source : US Department of Agriculture)*

Les effets observés

L'exposition in utero et néonatale à la mycotoxine provoque à l'âge adulte des lésions hyperplasiques

de la glande mammaire pour les animaux femelles. Chez le mâle, l'exposition néonatale à la mycotoxine induit à l'âge adulte une hypospermatogenèse par apoptose des cellules germinales males. La mycotoxine programme cette altération des cellules germinales adultes en modifiant l'empreinte et le fonctionnement de différents gènes. A l'aide d'outils de toxicogénomique, nous montrons que la ZEA modifie la méthylation des gènes impliqués dans la mort des cellules germinales. Ces résultats sont semblables à ceux obtenus avec l'estradiol benzoate, un estrogénomimétique de standard, ce qui suggère que la mycotoxine agit via une perturbation hormonale de type estrogénique.

Les conclusions

Par conséquent, l'exposition in utero et ou néonatale à la mycotoxine provoque à l'âge adulte des altérations de la fonction de certains organes (glande mammaire, prostate, testicule) pouvant conduire à une pathologie.

Les partenaires :

Mohamed Benahmed
Inserm U1065, Nice
J.-F. Michiels
CHU de Nice

Durée : 36 mois

Soutien : 8500 €

Contact : mohamed.benahmed@unice.fr

🕒 Réponse des abeilles aux perturbateurs endocriniens

Réponses individuelles et populationnelles des abeilles aux perturbateurs endocriniens xénobiotiques

James DEVILLERS

Le contexte

L'existence de perturbations des fonctions de la reproduction chez les vertébrés et d'une façon plus générale de leur système endocrinien, en relation avec des molécules fabriquées par l'homme a été révélée il y a plusieurs décennies. Les effets de telles molécules sur les insectes sont largement méconnus. C'est en particulier le cas de l'abeille (*Apis mellifera* L.) alors que son importance écologique et économique n'est plus à démontrer.

Les objectifs

Evaluer les effets perturbateurs endocriniens potentiels des six molécules suivantes sur les colonies d'abeilles :

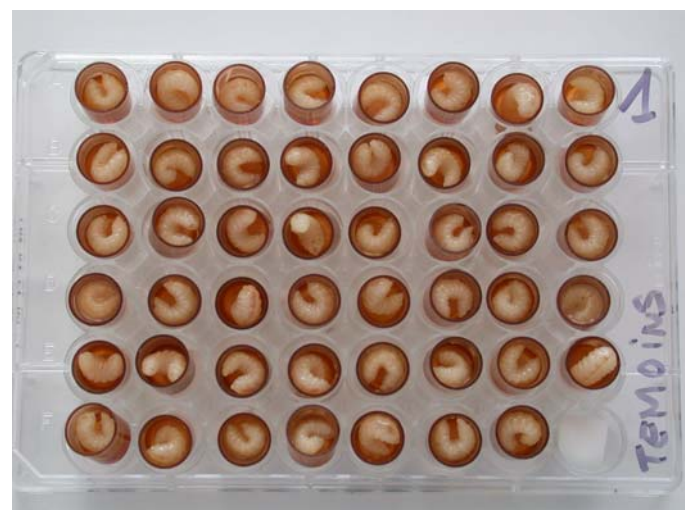
- **Pyriproxyfène** (analogue de l'hormone juvénile, affecte les nymphes) ;
- **Cyromazine** (inhibiteur de croissance, perturbe la synthèse de la chitine entre les mues larvaires) ;
- **Méthoprène** (analogue de l'hormone juvénile, affecte les nymphes) ;
- **Deltaméthrine** (pyréthrianoïde, utilisé en lutte antivectorielle contre les moustiques adultes et en agriculture) ;
- **PCB 153** (polychlorobiphényle très souvent rencontré dans l'environnement) ;
- **Tétrabromobisphénol A** (retardateur de flamme).

La méthodologie

Elle repose sur la réalisation de tests larvaires *in vitro* permettant d'évaluer les effets d'une exposition

aiguë ou chronique à une molécule durant l'ensemble des stades larvaires jusqu'à l'émergence. Les effets recherchés concernent la mortalité, la durée du développement larvaire, le poids des pré-nymphes, l'apparition de malformations, etc.

Outre ces manifestations directes sur les larves, ce test permet d'étudier des effets différés sur les adultes. Parmi ceux-ci, nous nous sommes intéressés aux glandes hypopharyngiennes. Elles jouent un rôle prépondérant dans la sécrétion de la gelée royale et donc dans l'alimentation des larves. Elles sont développées de façon exclusive chez les nourrices et leur état peut être apprécié par le dosage de leur contenu en protéines totales par la méthode Bradford après extraction. La fonction vitale de ces glandes pour la survie de la colonie ainsi que les possibilités d'apprécier leur état de développement et de fonctionnement en font des indicateurs intéressants pour estimer les effets adverses d'une molécule au sein de la colonie en liaison avec le polyéthisme.



Le développement larvaire
(source : James Devillers)

Dans une deuxième étape, des ouvrières émergentes issues des tests larvaires sont marquées et introduites dans une ruche vitrée comportant des œufs, différents stades larvaires (jeunes et vieilles larves, couvain operculé), des réserves et environ 3000 ouvrières accompagnant une reine fécondée.

Des observations sont réalisées quotidiennement, sauf le week-end, de J+1 (émergence et introduction en cage de vol) à J+25. Elles concernent, la mortalité, le comportement dans la colonie (*e.g.*, inactivité/immobilité, auto nettoyage, soins aux larves et aux adultes), la durée de butinage. Pour des raisons de coûts et de temps, le passage en conditions semi-naturelles n'a été réalisé que sur deux molécules sélectionnées sur les bases des résultats obtenus lors des tests larvaires, de leur mécanisme d'action et de leur intérêt pratique.

Les données expérimentales récoltées au cours des expérimentations étant obligatoirement limitées en nombre et dans le temps, elles ne sont pas suffisantes pour estimer les effets à long terme des molécules testées sur la dynamique des populations d'abeilles. Pour pallier ce problème, un modèle multi-agents qui est une approche individu-centré, stochastique et à temps discret a été élaboré. Ce type de modèle, utilisant des entités autonomes qui interagissent les unes avec les autres selon des règles préétablies est très intéressant pour modéliser des phénomènes complexes. La première étape devait consister à modéliser les traits d'histoire de vie des abeilles en rapport avec le fonctionnement normal d'une ruche. Les paramètres traduisant le mieux les perturbations endocriniennes observées lors des différents tests chez l'abeille devaient être ensuite introduits dans le modèle pour voir leurs effets à long terme.

Les effets observés

Ils dépendent des molécules et des concentrations testées, qui ont été choisies en fonction des résultats d'essais de toxicité aiguë orale et/ou de contact. La cyromazine appliquée à des doses cumulées de 3,6, 11, 33, 100 et 300 ng/larve ne provoque aucune mortalité significative à J+8 par rapport aux témoins. Les résultats à J+15 et J+26 montrent des pourcentages de mortalité variables mais relativement faibles par rapport aux témoins. Des

effets significatifs sur les glandes hypopharyngiennes n'ont été observés que dans un seul essai. Le tétrabromobisphénol A testé à 0,8, 4, 20 et 100 ng/larve ne provoque pas de mortalité significative à J+8, J+15 et J+26 et aucune perturbation du développement des glandes hypopharyngiennes. Le PCB 153 testé à 0,013, 0,06, 0,32 et 1,6 ng/larve induit une mortalité significative à J+8, J+15 et J+26. L'effet le plus significatif est observé à 1,6 ng/larve. Aux doses testées, aucun effet significatif n'a été observé sur les glandes hypopharyngiennes.

Le méthoprène testé à 0,22, 0,67, 2 et 6 µg/larve induit des mortalités variables à J+8 et J+15 qui ne permettent pas d'établir des relations dose-effet. Une mortalité significative est observée à J+26 aux doses de 0,67, 2 et 6 µg/larve. Le développement des glandes hypopharyngiennes est inhibé à 0,22 et 2 µg/larve. Des doses de 2, 6, 18 et 54 ng de deltaméthrine par larve perturbent le développement des glandes hypopharyngiennes. A 2 et 6 ng/larve on n'observe pas de mortalité significative durant les phases larvaires (J+4 à J+7) et nymphales (J+8 à J+15) par rapport aux témoins. Il en est de même au niveau des ouvrières émergentes. De plus, le pourcentage de malformées est le même que dans les témoins. Après introduction de 223 émergentes en cages de vol, une mortalité cumulée variant de 18 à 32 % selon les modalités est observée à J+3. Cette mortalité est principalement la conséquence du rejet des abeilles par leurs congénères de la colonie expérimentale. A J+25 aucune différence de mortalité n'est observée entre les abeilles adultes ayant été contaminées à 2 et 6 ng/larve et les témoins eau et acétone. Un total de 855 observations comportementales a été réalisé toutes modalités confondues du deuxième jour après démarrage des émergences jusqu'au vingt troisième. Dix neuf types de comportements ont été observés. Les abeilles dites « inactives ou immobiles » sur le cadre de couvain plus de cinq secondes représentent la majorité des observations avec un total de près de 41 % et une variation allant de 35 % à 47 % selon les modalités. Aucun effet significatif d'une exposition à la deltaméthrine pendant le stade larvaire n'est observé sur les tâches de soins au couvain et dans la zone de réserves. Une dose de pyriproxyfène de 54 ng/larve altère d'une façon significative le développement des glandes hypopharyngiennes. De plus, au cours du test larvaire, elle conduit à une mortalité significative à J+8, J+15 et J+26 par rapport

aux témoins. Un pourcentage élevé de malformations (e.g., ailes atrophiées) est observé parmi les émergentes. Des doses de 18 et 54 ng/larve ne provoquent pas de mortalité significative durant tout le développement larvaire. Lors de l'introduction en cage de vol, les abeilles contaminées sont souvent rejetées par les autres (70 % pour la plus forte concentration versus moins de 10 % pour les témoins). L'analyse des hydrocarbures cuticulaires, révélant la signature chimique des individus, montre des profils différents entre les abeilles témoins et celles exposées. Le suivi comportemental des abeilles révèle une altération de la cohésion sociale, surtout à la plus forte dose, avec en particulier une diminution des soins apportés au couvain.

Un modèle multi-agents, appelé SimBeePop, a été développé pour simuler le fonctionnement en continu d'une colonie d'abeilles dans une ruche de type Dadant pendant deux ans ce qui implique, en outre, la prise en compte du comportement des abeilles d'hiver. Toutes les catégories d'abeilles sont considérées ainsi que leurs traits d'histoire de vie. Le développement larvaire a fait l'objet d'une attention particulière afin de pouvoir étudier les effets des perturbateurs endocriniens sur la colonie. Les relations entre les différents individus sont également modélisées avec précision. Les effets à longs termes de perturbations comme une mortalité larvaire importante, une diminution de l'efficacité des nourrices ou un rejet anormal d'émergentes ont été estimés individuellement et d'une façon combinée avec SimBeePop. Nous montrons que des concentrations sublétales de deltaméthrine ou de pyriproxifène peuvent perturber la dynamique à long terme des populations d'abeilles surtout si la contamination est tardive dans la saison.

Les conclusions

Notre étude montre que le système endocrinien des abeilles peut être perturbé par des xénobiotiques présentant des structures et des mécanismes d'actions différents. Ces perturbations sont de nature variée et se manifestent à des doses très faibles. Celles-ci doivent cependant être confrontées aux concentrations trouvées dans l'environnement et qui peuvent être très variables. Néanmoins, notre étude démontre qu'actuellement les tests de toxicité utilisés dans le cadre réglementaire ne sont pas adaptés pour détecter ces types d'effets adverses. La combinaison d'approches in vitro, in situ et in silico permet de pallier ce manque.

Les partenaires :

P. Aupinel, D. Fortini

Inra

A. Decourtye, J. Fourrier

Acta

Durée : 36 mois

Soutien : 103471 €

Contact : j.devillers@ctis.fr

Endocrinair : contamination de l'air ambiant

Contamination de l'air ambiant par les perturbateurs endocriniens en Ile-de-France et caractérisation d'effets toxiques associés

Marc CHEVREUIL et Lucie OZIOL

Le contexte

La pollution atmosphérique urbaine concerne plus de 80 % de la population française. Aujourd'hui dans les villes, la pollution d'origine industrielle a cédé la place à une pollution plus diffuse et plus proche des populations. Cette pollution affecte l'air extérieur aux bâtiments, mais aussi l'air intérieur dans les appartements et autres habitats (lieux collectifs). Complexes et difficilement mesurables, les sources d'émissions peuvent être liées au trafic urbain (Ex. diesel, particules fines d'hydrocarbures aromatiques polycyclique ou HAP) ou être d'origine domestique (Ex. matériaux de construction, adhésifs, peintures, chauffage urbain, matières plastiques...).



Le trafic urbain

Les substances présentes dans l'air peuvent être inhalées sous forme de molécules « libres » ou absorbées à des particules microscopiques. Beaucoup restent sources de préoccupation pour la santé humaine, notamment celle des enfants et personnes fragiles.

Les objectifs

Cette contamination permanente de l'air ambiant soulève de nouvelles interrogations quant à l'exposition de l'Homme à des perturbateurs endocriniens par cette voie et à la possibilité d'effets sur sa santé, même si ceux-ci sont à faible concentration (on parle de micropolluants). Ce qui constitue l'aspect innovant de ce programme, c'est la recherche de molécules semi-volatiles à l'état gazeux ou liées à des particules **à l'extérieur et à l'intérieur** de locaux (appartement, bureau, crèche). Parmi les micropolluants retenus, figurent sept familles de substances avérées ou suspectées d'être des perturbateurs endocriniens :

- Alkylphénols (AP) : adjuvants
- Bisphénol A (BPA) : plastifiant
- Éthers de biphényles polybromés (PBDE) : retardateurs de flamme
- Hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAP) : contaminants issus notamment de la combustion
- Phtalates : plastifiants
- Polychlorobiphényles (PCB) : fluide diélectrique autrefois très utilisé
- Tétrabromobisphénol A (TBBPA) : retardateur de flamme

La méthodologie

Pour caractériser la contamination de l'air ambiant par ce large spectre de perturbateurs endocriniens, le projet consiste à échantillonner de grands volumes d'air en ville et à la campagne et ceci sur plusieurs périodes car les concentrations peuvent varier en fonction des saisons. Certains sites déjà intégrés dans

le réseau Airparif (Association agréée de surveillance de la qualité de l'air en Ile-de-France) ont été utilisés. Les composés ont été ensuite recherchés dans ces échantillons gazeux et particulaires ; les concentrations attendues varient entre un nanogramme et quelques microgrammes (un nanogramme = un milliardième de gramme).

En outre, le potentiel perturbateur endocrinien des échantillons a été évalué *in vitro* en utilisant trois types de tests cellulaires permettant de mesurer la perturbation de l'activité :

- du récepteur aux hormones thyroïdiennes ;
- du récepteur aux œstrogènes ;
- du récepteur aux androgènes et du récepteur aux des glucocorticoïdes (ces derniers pouvant être impliqués dans certaines pathologies pulmonaires).

Conclusions : les effets observés

La contamination de l'air ambiant :

Tous les perturbateurs endocriniens recherchés ont été décelés sur l'ensemble des sites étudiés et ont pu être presque toujours quantifiés. La comparaison des concentrations en air intérieur avec celles de l'environnement urbain montre que tous les contaminants (à l'exception des HAP et du BPA) présentent des concentrations en air intérieur, de 10 à 80 fois supérieures à celles de l'air extérieur.



L'environnement domestique

De plus, contrairement à des *a priori* concernant la faiblesse relative de la pression de vapeur des Composés Organiques Volatils (COV), il ressort ici comme dans d'autres travaux à l'étranger que pour la majorité de composés étudiés, l'exposition humaine se fait surtout par la phase gazeuse.

Le potentiel toxicologique de l'air ambiant :

Des effets perturbateurs estrogéniques, androgéniques, et, dans une moindre mesure, thyroïdiens, ont pu être mis en évidence. Une part des effets androgéniques observés pourrait passer par le récepteur aux glucocorticoïdes, mais reste à démontrer.

Le potentiel perturbateur endocrinien de l'air ambiant est en accord avec la contamination de ce compartiment. En effet, les activités biologiques sont plus importantes à l'intérieur (lieux peu ventilés), qu'à l'extérieur. Le potentiel toxicologique de la phase gazeuse est également plus élevé que celui de la phase particulaire.

L'exposition à la contamination de l'air ambiant pourrait engendrer des effets sanitaires indésirables en rapport avec le potentiel perturbateur endocrinien de cette contamination.

Les partenaires :

Marc Chevreuil

UMR 7619 Sisyphe (CNRS/UPMC et Paris Sud 11)

Johnny Gaspéri

UMR MA-102 CEREVE, (ENPC/Paris 12) Créteil

Yves Lévi, Lucie Oziol

UMR 8079 LSPE, Faculté de Pharmacie, Chatenay-Malabry

Anne Kauffmann

Airparif, Paris

Séverine Kirchner

CSTB, Marne-la-Vallée

Durée : 36 mois

Soutien : 179880 €

Contacts :

marc.chevreuil@upmc.fr (contaminants)

lucie.oziol@u-psud.fr (effets toxicologiques)

🕒 Écosystèmes épuratoires : dissipation ou devenir des micropolluants

Les interactions Perturbateurs Endocriniens-MICroorganismes et Matière OrGanique, moteur de l'écodynamique et de l'impact des polluants au sein d'écosystèmes épuratoires (PecMicMog)

Dominique PATUREAU

Le contexte

Parmi les dispositifs propres à réduire ou à éliminer les différents polluants (carbone, azote, phosphore, micropolluants...) contenus dans les eaux usées, figurent les stations d'épuration. Dans ces installations, l'eau subit des traitements physiques, chimiques et biologiques destinés à éliminer les polluants qu'elle contient. Ces traitements produisent des boues qui sont utilisées en agriculture. En effet, elles contiennent des éléments fertilisants et amendants (microorganismes, azote, phosphore et matières organiques). Les boues sont épandues dans les champs après conditionnement et stabilisation, par exemple par du compostage ou de la méthanisation.

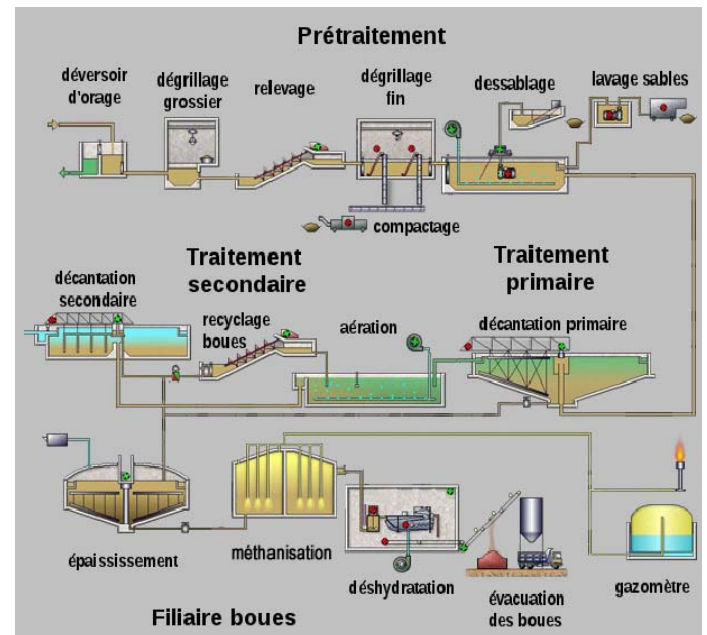
Une telle utilisation nécessite que les boues issues des stations d'épuration ne contiennent pas de molécules organiques indésirables qui pourraient contaminer l'environnement.

Les objectifs

Le projet vise à améliorer la compréhension des phénomènes qui régissent le devenir des micropolluants lors du traitement des boues. Ces phénomènes impliquent des interactions entre les molécules polluantes, les micro-organismes qui dégradent les molécules indésirables et la matrice qui les contient (la boue).

Cette compréhension accrue permettra de mieux appréhender la dynamique des micropolluants, de la modéliser et contribuera significativement à l'évaluation et la réduction des risques liés à la présence de ces molécules dans un produit résiduaire organique.

Cette connaissance permet aussi de proposer des stratégies de traitement, par exemple pour maximiser la dégradation de ces micropolluants ou minimiser leur transfert vers les végétaux ou plus généralement les écosystèmes.



*Usine d'épuration : schéma de principe
(d'après Josefpm - Creative Commons générique 2.5)*

La méthodologie

Dans une première étape, il s'agit de caractériser biochimiquement divers milieux (des boues issues de différentes stations d'épuration) en les séparant en sous-compartiments physiques tels que particules, grosses molécules, petites molécules.

- **D'une part**, on mesure pour ces divers types de boues : la distribution des micropolluants dans les sous-compartiments et la vitesse à laquelle les microorganismes peuvent détruire les micropolluants. Différentes configurations sont étudiées : des réacteurs continus (système ouvert avec des flux d'entrée et de sortie) ou discontinus (on laisse réagir en vase clos entre 20 et 30 jours).
- **D'autre part**, une seule boue sert de substrat à différentes communautés microbiennes prises individuellement, afin d'observer l'effet de cette diversité sur la dégradation des micropolluants pour un environnement donné.



Epandage de boues : tracés

(Auteur : Rasbak, GNU Free Documentation Licence - Creative Commons générique 3.0)

Les effets observés

À boues différentes correspondent des dégradations de micropolluants différentes. Les micropolluants se retrouvent différemment répartis dans les sous-compartiments physiques. Ils présentent des propriétés de sorption (capacité de coller à différents éléments de la boue) différentes qui ne s'expliquent pas uniquement par leurs propriétés physico-chimiques propres mais aussi par les caractéristiques des boues et de leurs sous-compartiments. Les répartitions physiques différentes impliquent des dégradations différentes. Par exemple, le compartiment aqueux est le compartiment disponible pour les micropolluants et c'est dans celui-ci que se trouvent de grosses molécules, qui sont favorables à la sorption (collage) des molécules polluantes.

Quant à l'expérience avec ajout dans une même boue de communautés microbiennes provenant d'écosystèmes à historique contrasté, on observe que l'élimination des micropolluants (par digestion microbienne) est identique, alors même que les communautés microbiennes sont très différentes et qu'on aurait pu attendre des complémentarités dans leur action.

Les conclusions

L'approche envisagée dans ce projet intègre l'ensemble des interactions micropolluant-matrice-microorganismes qui sont présentes au sein des boues des stations d'épuration. Elle permet d'identifier les paramètres clés qui pilotent la dynamique des polluants et de proposer des stratégies de traitement pour optimiser leur devenir.

Les partenaires :

INRA, LBE, Narbonne

Dominique Patureau

INERIS

Selim Ait-Aissa

IRSTEA Antony

Laurent Mazeas

LPTC EPOC Université de Bordeaux 1

Hélène Budzinski

Durée : 36 mois

Soutien : 240130 €

Contact : dominique.patureau@supagro.inra.fr

🕒 Déceler la perturbation endocrinienne à faibles doses

Modèles intégrés pour déceler la perturbation endocrinienne à faibles doses

Barbara DEMENEIX

Le contexte

Chez tous les vertébrés, les hormones thyroïdiennes (HT) sont produites par la glande thyroïde, sous contrôle du cerveau et de la glande hypophysaire. Les HT sont essentielles pour le développement du cerveau chez l'homme et d'autres mammifères, mais également pour contrôler la métamorphose des amphibiens. Chez le mammifère adulte les HT contrôlent le métabolisme et l'équilibre énergétique.

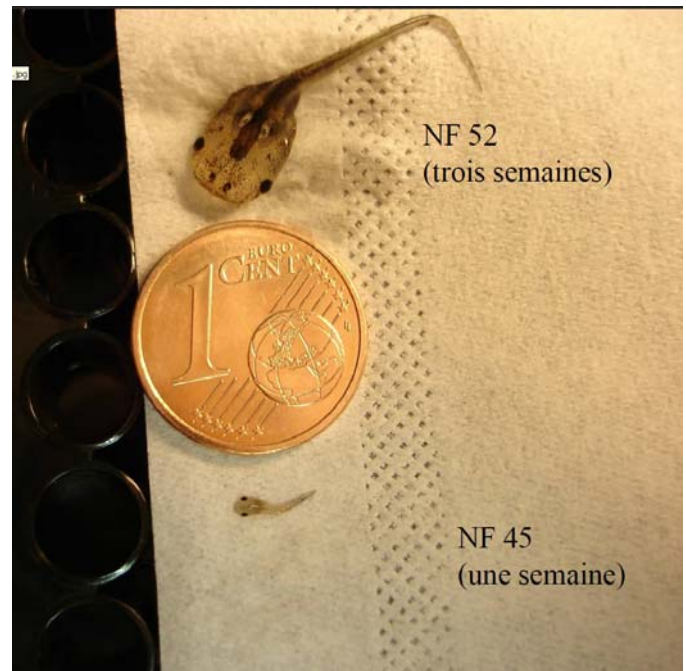
Certains auteurs estiment que plus de polluants sont susceptibles d'interférer avec la signalisation des hormones thyroïdiennes plutôt qu'avec n'importe quelle autre voie endocrinienne. Pour comprendre et mesurer les effets des substances qui peuvent induire des perturbations thyroïdiennes, les amphibiens sont utilisés depuis des décennies comme modèles, car leur métamorphose dépend de la même hormone active (T_3) également présente chez l'homme.

Les objectifs

S'il n'existe toujours pas de normes spécifiques pour détecter les substances avec effet de perturbation endocrinienne, ni de tests standardisés disponibles pour l'évaluation de ces substances, alors il est urgent de disposer selon l'OCDE¹⁴, de lignes directrices pour répondre aux préoccupations des différents pays.

Un test physiologique alliant les connaissances fondamentales et des technologies de pointe (transgénèse) a été précédemment développé.

Ce test *in vivo*, permet de caractériser et de cribler les perturbateurs de la signalisation des HT par la mesure de fluorescence émise avec des embryons de xénope (« têtards sentinelles »). Ce test est actuellement en cours de validation par l'OCDE.



Les têtards sentinelles
(source : Barbara Demeneix)

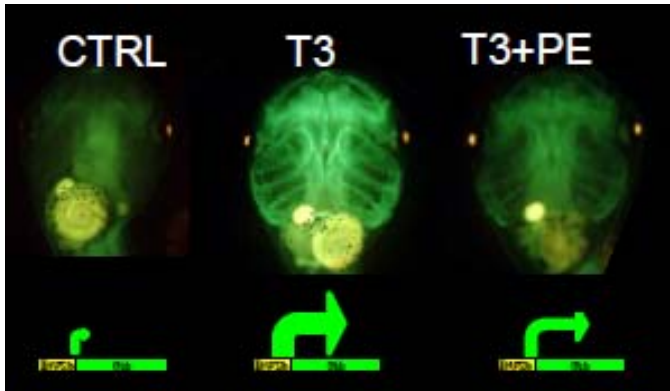
Dans le but de répondre aux exigences actuelles, trois grands axes ont été développés :

- 1) Affiner cette méthode à l'interface *in vivo* / *in vitro* dans la perspective de réduire à terme le nombre des animaux testés
- 2) transférer la technologie à un nouvel organisme aquatique le zebrafish,
- 3) exploiter la méthodologie pour cribler les effets de mélanges de polluants et à faibles doses.

¹⁴ Organisation de Coopération et de Développement économiques.

La méthodologie

Grâce à la collaboration de laboratoires académiques et d'une entreprise nous avons pu affiner le protocole du test, réaliser un criblage à moyen débit et ainsi étudier les effets de nouvelles substances, seules ou en mélanges et à de faibles doses.



Tests de validation
(source : Barbara Demeneix)

De plus les tests effectués précédemment sur les embryons de xénope ont été adaptés pour d'autres petits organismes modèles tels le poisson zèbre (« zebrafish ») afin d'affiner la méthode et détecter des gènes cibles des HT potentiellement sensibles à des modifications épigénétiques (graduellement dans l'œuf) générées par des perturbateurs endocriniens.

Les effets observés

Les tests que nous avons effectués dans le cadre de ce projet du PNRPE ont permis d'optimiser un protocole de criblage de perturbateurs thyroïdien qui est en cours de validation par l'OCDE. De fait nous avons pu raffiner le protocole et réduire le nombre d'animaux utilisés de moitié. Au cours de la première phase de test, nous avons pu montrer que l'hexaconazole (pesticide) a un pouvoir de perturbation thyroïdienne, ce qui n'était pas connu auparavant.

Nous avons également pu confirmer *in vivo* les effets d'une perturbation thyroïdienne des composés perfluorés (PFOS, PFOA utilisés comme anti adhésifs (poêles à frire, vêtements déperlants). De plus, nous avons montré qu'un mélange de médicaments de type glucocorticoïdes entraîne un fort pouvoir de perturbation thyroïdienne chez l'amphibien même à des faibles doses.

Le PNRPE a permis d'une part le transfert de technologie vers le poisson zèbre. Ceci rendra possible dans un futur proche l'étude d'effets de mêmes perturbateurs sur des espèces différentes. D'autre part, la méthode retenue a permis de diminuer le nombre d'animaux utilisés par deux, suivant la ligne directrice des « 3R » définie par l'OCDE : « réduction, remplacement, raffinement ».

Les partenaires :

Barbara Demeneix

UMR 7221 CNRS/MNHN Paris

J. B. Fini

UMR 7221 CNRS/MNHN Paris

S. Le Mevel

UMR 7221 CNRS/MNHN Paris

K. Palmier

UMR 7221 CNRS/MNHN Paris

Vincent Laudet

IGFL CNRS, UMR 5242, ENS Lyon

Gregory Lemkine

WatchFrog

Durée : 24 mois

Soutien : 16556 €

Contact : demeneix@mnhn.fr

🕒 Les récepteurs aux corticostéroïdes chez le médaka

Détection et évaluation des effets endocrines de composés médicamenteux anti-inflammatoires sur les récepteurs aux corticostéroïdes chez le Médaka

Patrick PRUNET

Le contexte

A la sortie des stations d'épuration et donc dans les rivières, on retrouve de plus en plus souvent des résidus médicamenteux. Certaines de ces molécules imitent l'action de nos hormones et perturbent les récepteurs normalement destinés aux hormones d'origine.

Le cortisol est une hormone sécrétée par l'homme en réponse à des situations de stress. Mais il peut être « mimé » par des corticoïdes de synthèse, utilisés dans différents traitements (par exemple anti-inflammatoires). Ces dernières substances qui peuvent être ingérées en dehors d'un traitement présentent des risques pour la santé et doivent pouvoir être détectées.



Le médaka (Oryzias latipes)

(source : Seotaro – GNU Free Documentation Licence)

Les objectifs

Le but du projet est la mise au point de méthodes de détection des corticoïdes de synthèse d'origine médicamenteuse dans les milieux aquatiques. Ces méthodes s'appuient sur la mesure des réponses de poissons exposés ou non à ces molécules, pour mieux

caractériser les effets perturbateurs de molécules d'origine médicamenteuse que l'on retrouve dans les rejets d'eaux usées et dans les rivières.

La méthodologie

La stratégie consiste à utiliser pour ces tests un poisson modèle, le médaka. Doté d'un gène supplémentaire ce poisson acquiert une propriété bien particulière : en présence de corticoïde il devient fluorescent. Plusieurs lignées transgéniques de médaka ont pu être créées, puis testées avec diverses molécules de perturbateurs endocriniens.

Les premières lignées stables de médakas ont été produites et devraient permettre de distinguer spécifiquement les corticoïdes de synthèse.

Les effets observés

Les premières séquences de tests avec une molécule anti-inflammatoire de synthèse, la dexaméthasone sont encourageantes.

Les partenaires :

Vincent Laudet

UMR CNRS 5242, ENS, Institut de Génomique Fonctionnelle, Lyon

Grégory Lemkine

WatchFrog S.A.S., Paris

Collaboration : Marcel Schaaf

Institute for Biology, Leiden University, Leiden, Pays-Bas

Durée : 24 mois

Soutien : 130831 €

Contact : patrick.prunet@rennes.inra.fr

🕒 Distilbène, quelles leçons sociologiques ?

Distilbène : quelles leçons sociologiques ? Une expérience médicale et sociale des perturbateurs endocriniens

Emmanuelle FILLION et Didier TORNY

Le contexte

En 1970, la revue *Cancer* rapporte six cas de cancers du vagin à cellules claires chez des jeunes filles âgées de 15 à 22 ans. Chez des femmes aussi jeunes, ce résultat indique un possible problème de santé publique. L'année suivante, le *New England Journal of Medicine* publie une étude contrôlée cas-témoins : les cancers sont associés de manière significative à la prise de diéthylstilbestrol plus communément appelé distilbène (DES) par leur mère durant le premier trimestre de grossesse. Ce médicament, autorisé par la *Food and Drug Administration* en 1941, a été administré à des millions de femmes américaines en vue de prévenir des fausses couches. Pour la première fois, on identifie un lien entre la prise d'un médicament pendant la grossesse et un effet morbide à distance temporelle importante dans la descendance. Une nouvelle catégorie apparaît, avec son modèle propre de transmission : les maladies transgénérationnelles. Depuis, la liste des effets potentiels ou avérés de l'exposition au DES *in utero* n'a cessé de s'allonger : infertilité, grossesses à hauts risques, prématurités élevées, malformations urogénitales, cancers, troubles psychiatriques, troubles du comportement alimentaire... En outre, les populations en jeu s'étendent, des « filles DES », aux « fils DES » et maintenant aux petits-enfants des femmes ayant pris du DES pendant leur grossesse.

Le DES est interdit dans le cadre de la grossesse depuis 1971 aux Etats-Unis et seulement depuis 1977 en France où aucune surveillance épidémiologique des 200 000 femmes exposées et de leur descendance n'a été mise en œuvre.

Les objectifs

L'objectif général du projet est d'analyser l'histoire du DES en France, en particulier sous l'angle des mobilisations sociales. Aussi, nous avons été attentifs à l'ensemble des formes d'apprentissage sociales, juridiques, cliniques, scientifiques induites par le DES. Mais, le cas français montre qu'on n'a ni écouté les lanceurs d'alerte ni observé les premières victimes. Même leur dénombrement et leur identification sont problématiques.



Affiche de prévention associative (DES France)

Ce constat corrobore une ligne de travaux contemporains sur les formes d'oubli et d'invisibilité qui relèvent moins de formes d'organisations volontaires que de l'absence de construction de cadre d'analyse et de partage d'expérience. L'histoire française du DES s'esquisse « en creux », renvoyant à la négligence plus souvent qu'à un engagement des acteurs de santé. Cette analyse de l'histoire du DES en France, à la façon d'un retour d'expérience consécutif à une catastrophe, doit permettre d'esquisser un modèle pour mieux appréhender le dossier des perturbateurs endocriniens.

La méthodologie

Nous avons mené une enquête sociologique qualitative, essentiellement basée sur :

- la collecte et l'analyse d'archives publiques (littérature médicale, presse généraliste...) et privées (de médecins, d'associations, d'acteurs de santé publique...);
- une analyse des décisions judiciaires (environ 80) et de la doctrine concernant le contentieux DES;
- des entretiens semi-directifs, environ 100, soit une trentaine avec des acteurs publics du DES (scientifiques, cliniciens, acteurs de santé publiques et leaders associatifs) et environ 70 avec des personnes touchées (essentiellement mères et filles).

Les conclusions

L'histoire française du DES est une histoire d'oublis successifs, d'absence d'information, de négligence, de minoration des effets, de refus de publicisation. Au cœur de cette histoire, demeure la question de l'inaction massive des professionnels de santé et des pouvoirs publics. Un tout petit nombre d'acteurs s'est mobilisé. Son travail est resté très localisé et peu publicisé. Depuis quelques années néanmoins, l'affaire du distilbène est réactivée, ouvrant à ces acteurs de nouvelles perspectives et répertoires d'action.

Premièrement, le dossier des filles DES a été à nouveau ouvert avec les résultats de la cohorte

américaine sur les cancers du sein de la femme ménopausée, posant la question d'une énième vague d'effets délétères à très longue distance temporelle sur les populations exposées *in utero*.

Deuxièmement, le scandale du Mediator, médicament anti-diabétique provoquant des problèmes cardiaques sériels, a soulevé à nouveau la question des limites de la pharmacovigilance sur les effets à distance temporelle, des conflits d'intérêts entre firmes et pouvoirs publics, et des « retards » dans les retraits de médicament. A rebours, le distilbène est invoqué comme précédent perpétuellement « oublié » dont il est temps de tirer les leçons.

Troisièmement, une partie des acteurs est mobilisée sur les effets sur la troisième génération. C'est le cas de lanceurs d'alerte sur les perturbateurs endocriniens concernant en particulier les pubertés précoces et les modifications de l'appareil génital masculin. Les polémiques sur le BPA et ses usages alimentaires, ont soutenu ces inquiétudes et ont contribué à désigner le DES comme précédent à un large public.

Mais la production de preuves sur les effets sanitaires du D.E.S a été longue et complexe, presque entièrement dépendante des cohortes américaines et néerlandaises. Des incertitudes scientifiques demeurent, notamment pour la troisième génération, en raison de trois facteurs : l'écart temporel entre l'exposition et les manifestations cliniques des effets, rendant délicate l'évaluation de l'impact de cette exposition ; la prévalence élevée de certains troubles en population générale, indiquant de multiples facteurs confondants (c'est-à-dire d'autres facteurs ayant le même effet que le DES) ; les difficultés de suivi épidémiologique de la descendance.

Le droit fait face aux mêmes difficultés : la preuve de l'exposition est particulièrement difficile à fournir pour le plaignant, les connaissances scientifiques n'offrent pas de réponses tranchées, l'établissement d'un lien entre une victime transgénérationnelle et le fabricant du produit est complexe. Pour faire face à ces difficultés, les juges ont produit de nombreuses innovations (obligation de vigilance, renversement de la charge de la preuve...) ou adapté des solutions

la prématurité des petits-enfants).

Dans le cas des perturbateurs endocriniens à exposition environnementale, l'établissement de preuves juridiques et scientifiques devra faire face à des questions plus complexes encore, du fait d'un moindre traçage des substances et d'expositions multiples. On peut penser néanmoins que le contentieux distilbène fournira une première matrice.

Les partenaires :

Emmanuelle Fillion

Maître de Conférences à la Maison des sciences sociales du handicap, sociologie des affaires médicales et sociologie du handicap

Didier Torny

Inra, Unité RiTME, sociologie des risques et des normes

Durée : 36 mois

Soutien : 73736 €

Contact : didier.torny@ivry.inra.fr



Les actions de l'Anses sur les perturbateurs endocriniens

Les effets sanitaires des perturbateurs endocriniens constituent un chantier emblématique du travail de l'Anses. De par sa structure originale, alliant entités d'évaluation des risques, laboratoires exerçant des missions de recherche et de référence et équipes en charge de soutien à la recherche, l'Anses travaille de façon intégrée sur cette problématique. Ses actions se déclinent autour de deux grands axes complémentaires : l'évaluation des risques et la production de connaissances, passant à la fois par ses missions de recherche et référence, et de soutien à la recherche. L'ensemble de ces travaux s'intègre dans différents plans nationaux notamment, le deuxième Plan national santé environnement (PNSE 2, 2009-2013), Plan national sur les résidus de médicament (PNRM), Plan Ecophyto, et le Programme national de recherche sur les perturbateurs endocriniens (PNRPE).

Évaluation des risques

L'Agence mène depuis 2009, à la demande des ministères chargés de la Santé et de l'Environnement, des travaux d'expertise d'envergure sur les perturbateurs endocriniens. Elle mobilise ainsi ses ressources pour évaluer une trentaine de substances. S'étalant sur plusieurs années, ce travail est symbolique du rôle joué par l'Anses sur la connaissance des substances chimiques et de leurs dangers. L'Agence a pour mission de :

- **Hiérarchiser les substances à étudier** en priorité.
- **Identifier les produits et articles de consommation grand public** contenant des substances toxiques pour les fonctions de reproduction et la fertilité, ou susceptibles de l'être.
- **Caractériser les expositions** de la population générale et des travailleurs à ces substances via les articles et produits par voie cutanée et respiratoire.
- **Procéder à une évaluation des risques** prenant en compte les périodes de vulnérabilité particulières de certains groupes de population (période in utero, nourrissons, etc.).
- **Identifier les substitutions possibles** pour certaines substances pour lesquels un risque sanitaire aurait été mis en évidence.

Ce travail d'ensemble donnera lieu à une série de rapports d'évaluation de risque, chacun spécifique d'une substance. Pour ce qui concerne le bisphénol A (BPA), l'Agence, à la demande des ministères de tutelle, intègre dans ses travaux d'expertise en cours l'ensemble des voies d'exposition (alimentaire, respiratoire, et cutanée). Un recensement des substituts et alternatives au BPA a été réalisé en 2012. Les deux premiers rapports sur le BPA réalisés dans ce cadre, et publiés fin 2011, sont relatifs aux effets sanitaires du bisphénol A et à ses usages. L'Agence y a identifié comme objectif prioritaire la prévention des expositions des populations les plus sensibles (nourrissons, jeunes enfants et femmes enceintes ou allaitantes). Elle recommande une réduction de ces expositions, notamment par sa substitution dans les matériaux au contact des denrées alimentaires.

Les travaux d'expertise se poursuivent pour d'autres familles de substances perturbatrices endocriniennes (phtalates, parabènes, composés bromés, phénols...) notamment en rapport avec des expositions à des articles de consommation grand public.

Par ailleurs, dans le cadre de ses missions d'évaluation réglementaire, notamment menées en appui aux autorités françaises pour la mise en œuvre de la réglementation européenne relative à la classification et à

l'étiquetage des substances chimiques et du règlement REACH, l'Anses a proposé à l'ECHA¹⁵ fin 2012, un classement du BPA en tant que toxique pour la reproduction (passage de la catégorie 2 à la catégorie 1B) au niveau européen. Un classement en catégorie 1 aurait pour conséquence directe l'application de mesures réglementaires plus sévères, en particulier l'obligation de mise en place de mesures de prévention renforcées pour les utilisations professionnelles de cette substance (en premier lieu sa substitution), ou l'interdiction de mise sur le marché de mélanges contenant du BPA à destination des consommateurs.

D'autre part, les réglementations sur les produits biocides et phytopharmaceutiques nécessitent une identification des propriétés potentielles de perturbation endocrinienne des substances. De plus en plus d'essais dédiés sont ainsi mis à disposition de l'Agence en vue de l'évaluation des risques pour l'homme et l'environnement.

Production de connaissances

Pour réaliser ses évaluations de risque, il est essentiel que l'Anses puisse appuyer son expertise et ses recommandations sur l'analyse d'un ensemble de données le plus complet possible et notamment de données du terrain. Ainsi, au-delà de ses travaux d'évaluation du risque, l'Anses exerce aussi des missions de veille, de recherche et référence ainsi que de soutien à la recherche sur les perturbateurs endocriniens.

La collecte des données s'opère sur les principales sources d'exposition que sont l'eau et les aliments ; l'analyse de ces données au cours du temps permettra d'éclairer l'exposition de la population aux contaminants qui sont déjà ou seront prochainement identifiés comme perturbateurs endocriniens.

- Grâce à l'**Observatoire des Résidus de Pesticides** dont elle a la responsabilité, l'Agence collecte et analyse des données relatives à la présence de résidus de pesticides dans les milieux.
- *Via* les études qu'elle réalise, l'Anses dispose de données sur la présence de composés perfluorés, ou encore de résidus de médicaments dans les ressources en eau et dans l'eau potable (travaux réalisés par le Laboratoire d'hydrologie de Nancy de l'Anses). Le laboratoire de Nancy a également récemment mené des travaux sur la libération de phtalates par des matières plastiques.
- Suite à la **deuxième Etude de l'Alimentation totale française EAT2, qu'elle a réalisée, l'Agence dispose** également de l'exposition des populations à plusieurs centaines de substances chimiques d'intérêt dont certaines pouvant avoir une action de perturbateur endocrinien (comme les mycotoxines).
- Par ailleurs, grâce à ses **mandats de laboratoire national de référence pour les mycotoxines, et pour divers contaminants de l'alimentation** (résidus de médicaments vétérinaires et colorants au Laboratoire de Fougères ; pesticides au Laboratoire de Maisons-Alfort), l'Agence participe à la surveillance de ces différentes substances et dispose ainsi de précieuses données sur leur présence ou absence dans les aliments, utiles à ses travaux d'évaluation de risques.

Enfin, au regard de sa mission de programmation de la recherche, l'Agence soutien la recherche sur les perturbateurs endocriniens *via* les appels à projets qu'elle lance chaque année dans le cadre de son programme national de recherche Environnement-Santé-Travail (PNR EST), outil essentiel pour développer les connaissances en appui aux politiques publiques et aux travaux d'évaluation des risques sanitaires de l'Anses. Ainsi depuis 2006, l'Agence a soutenu 28 projets portant sur ce thème pour un montant d'aide de l'ordre de 3 M€.

¹⁵ Agence Européenne des produits chimiques (European Chemicals Agency)



Les actions du MEDDE sur les perturbateurs endocriniens

Les actions nationales

• Stratégie nationale sur les perturbateurs endocriniens

Suite à la conférence environnementale des 14-15 septembre 2012, la feuille de route pour la transition écologique indique :

« Concernant les perturbateurs endocriniens, un groupe de travail associant l'ensemble des parties prenantes sera mis en place pour élaborer d'ici juin 2013 une stratégie nationale comprenant des actions de recherche, d'expertise, d'information du public et de réflexion sur l'encadrement réglementaire ». Le MEDDE animera les travaux de ce groupe.

• Le 2^{ème} Plan national Santé – Environnement (PNSE 2)

L'action 18 du PNSE « *Mieux gérer les risques liés aux reprotoxiques et aux perturbateurs endocriniens* » vise directement les perturbateurs endocriniens ou encore l'action 50 qui appelle à renforcer la recherche sur les perturbateurs endocriniens ainsi que la surveillance épidémiologique et la veille sanitaire dans ce domaine.

En matière de biosurveillance, l'enquête ESTEBAN (Environnement, SanTé, Biosurveillance, Activité physique, Nutrition) portée par l'InVS est une enquête de biosurveillance couplée avec des examens de santé et un volet nutritionnel. Elle démarrera en 2013 et les premiers résultats pourront être disponibles à partir de 2015. Une centaine de substances seront dosées. La cohorte Elfe représente le volet périnatalité de ce programme de biosurveillance. Des prélèvements biologiques ont été réalisés sur 5 900 couples mères/enfants en 2011. Des analyses de biomarqueurs vont être réalisées en 2012/2013 sur les substances suivantes : BPA, phtalates, les métaux, les pyréthriinoïdes, PCBs, dioxines, PBDE et composés perfluorés.

• Le Plan National sur les Résidus de Médicaments

Le Plan National sur les Résidus de Médicaments dans les Eaux (PNRM), qui s'inscrit, dans l'action 47 du PNSE 2, doit permettre d'améliorer la connaissance et la réduction des risques liés aux rejets de médicaments humains et vétérinaires dans l'environnement.

Les actions communautaires

Le MEDDE est très impliqué dans les actions communautaires en termes de perturbateurs endocriniens. Le Ministère a ainsi participé à la préparation des conclusions du Conseil de l'Environnement du 22 décembre 2009 qui a formulé plusieurs attentes concernant les perturbateurs endocriniens et a invité en particulier la Commission à prendre plusieurs initiatives sur les perturbateurs endocriniens à partir des travaux de recherche.

La France participe activement, aux côtés notamment de 5 autres Etats membres (Danemark, Allemagne, Suède, Pays-Bas, Royaume-Uni), aux actions communautaires dans le domaine des perturbateurs endocriniens et notamment dans le cadre de la révision pilotée par la Commission européenne de la stratégie européenne sur les PE. Le MEDDE participe aux discussions sur la définition, les critères et sur la prise en charge par les réglementations sectorielles (REACH, Phytos, Biocides ...).

Le MEDDE contribue également au développement de lignes directrices OCDE (définition de tests et de lignes

directrices permettant de caractériser et de quantifier les PE).

La recherche

Le MEDDE a mis en place très tôt un programme dédié à la recherche sur les perturbateurs endocriniens : le Programme National de Recherche sur les Perturbateurs Endocriniens (PNRPE). Le PNRPE s'articule autour des appels à propositions de recherche (APR) et des manifestations et publications en lien avec les projets de recherche soutenus dans le cadre du programme (cf. le PNRPE en chiffres, pp. 2-3).

3 appels à propositions de recherche (APR) ont été lancés depuis la création du PNRPE :

- APR 1 en 2005 : 7 projets financés et terminés, pour un soutien total de 1 million d'euros.
- APR 2 en 2008 : 15 projets financés, 13 par le ministère (1,6 M€), 2 par l'ADEME (0,4 M€),
- APR 3 fin 2010 : 9 projets financés en 2011 pour un soutien total de 1,36 M€ (ministère).

Suite à l'avis du Comité de la Prévention et de la Précaution (CPP), ce programme a permis de densifier les efforts qui pouvaient être faits et de contribuer à rassembler une communauté de recherche sur ce sujet. Le MEDDE a également dédié des financements sur les PE à l'Anses d'une part dans le cadre du Programme National de Recherche Environnement Santé Travail (PNR EST) et à l'INERIS d'autre part notamment dans le cadre du réseau Antiope.

- Acétone, 31
Aldrine, 10
Azote, 35
Benzène, 26
Bisphénol A, 2, 8, 11, 13, 20, 23, 43
BPA *Voir* Bisphénol A, *Voir* Bisphénol A
Carbone, 35
Chlordane, 10
Chlordécone, 8, 10
Composés bromés, 43
Composés Organiques Volatils, 34
Composés perfluorés, 20, 38, 44
Corticoïde, 39
Cortisol, 39
Cyromazine, 30, 31
Cytochromes, 18, 19
DDT *Voir* Diéthylstilbestrol
Deltaméthrine, 30, 32
DES *Voir* Distilbène
Dexaméthasone, 39
Dibenzofuranes, 10
Dieldrine, 10
Diéthylstilbestrol, 9, 12, 40
Dioxines, 18
Distilbène, 13, 40, 41
Endosulfan, 10
Endrine, 10
Génistéine, 23, 24
Goudron, 18
HAP *Voir* Hydrocarbures aromatiques
Heptachlore, 10
Hexachlorobenzène, 10
hydrocarbures, 27
Hydrocarbures aromatiques, 11, 18, 26, 27, 33
Lindane, 10
Mediator, 41
MEHP *Voir* Phtalates
Méthoprène, 30, 31
Mirex, 10
Mycotoxine, 28, 29
Mycotoxines, 11, 44
Organoétains, 20
Parabène, 8
Parabènes, 43
PCB *Voir* Polychlorobiphényles, *Voir* Polychlorobiphényles
PFOA *Voir* Composés perfluorés
PFOS *Voir* Composés perfluorés
Phénols, 43
Phosphore, 35
Phtalates, 11, 20, 43
Polluants organiques persistants, 17
Polychlorobiphényles, 10, 17
Polychlorodibenzo-*p*-dioxines, 10
POP *Voir* Polluants organiques persistants
Pyréthriinoïde, 30
Pyriproxifène, 30, 31, 32
Tétrabromobisphénol A, 21, 30, 31
Toxaphène, 10
Tributylétain, 21
Vinclozoline, 23, 24
ZEA *Voir* Zéaralénone
Zéaralénone, 28

A

Absorption	C'est le processus par lequel une substance pénètre dans l'organisme. Deux éléments sont importants à prendre en compte : la quantité absorbée et la vitesse d'absorption. (source : Inserm)
Androgène	Hormone qui provoque, comme la testostérone, le développement des caractères sexuels masculins.
Apoptose	Ce phénomène correspond à un mécanisme de mort cellulaire programmée ; c'est un processus qui intervient dans le développement normal d'un organisme multicellulaire vivant.

B

Barrière naturelle	Surface s'opposant au déplacement de substances chimiques, comme par exemples la peau, le poumon, la paroi intestinale... Le franchissement de certaines barrières naturelles, comme la barrière placentaire, peut conduire à l'exposition du fœtus pendant une période particulièrement sensible de développement.
Biomarqueur	Paramètre qui reflète la réponse biologique (adverse ou non) à une exposition. Cette réponse est un changement observable et/ou mesurable au niveau moléculaire, biochimique, cellulaire, physiologique ou comportemental, qui permet de révéler l'exposition présente ou passée d'un individu à au moins un agent chimique, biologique ou physique. (source : dossier Santé Environnement, Afsset)

C

Cancer	C'est un terme général appliqué à un grand groupe de maladies qui peuvent toucher n'importe quelle partie de l'organisme. L'une de ses caractéristiques est la prolifération rapide de cellules anormales qui peuvent essaimer dans d'autres organes, formant ce qu'on appelle des métastases. (Source : OMS) D'après l'Inserm, "on assiste depuis une vingtaine d'années à une augmentation de l'incidence (fréquence d'apparition) de certains cancers, en particulier les cancers du testicule, de la prostate, du sein et de l'ovaire".
Cellules de Leydig	Cellules stéroïdogènes, sources de testostérone.
Chaîne alimentaire (ou trophique)	Succession d'organismes dont chacun vit aux dépens du précédent. Permet de représenter "qui mange qui ?", en mettant en évidence les relations de dépendance entre les êtres vivants.
Chromosome	Élément du noyau des cellules, contenant de molécule d'ADN.
Cryptorchidie	Anomalie de la descente testiculaire constatée à la naissance.
Cytochrome	Substance protéique indispensable à la chaîne respiratoire de la cellule.

D

Diabète	Le diabète est une maladie chronique qui apparaît lorsque le pancréas ne produit pas suffisamment d'insuline ou que l'organisme n'utilise pas correctement l'insuline qu'il produit. (source : OMS)
Distribution tissulaire	C'est le processus selon lequel une substance absorbée (ou ses produits de transformations appelés « métabolites ») se répartissent dans les différents organes et tissus. (source : Inserm)
DJT	Dose journalière tolérable
Dysgénésie (ou dysplasie)	Anomalie du développement d'un tissu ou d'un organe, avant la naissance.

E

Écosystème	Unité d'organisation biologique composée de tous les organismes présents dans un espace donné et présentant des interactions entre eux et avec le milieu physique. Un écosystème est constitué par l'association dynamique de deux composantes en constante interaction : d'une part un environnement physico-chimique, géologique, climatique ayant une dimension spatio-temporelle définie, le biotope ; d'autre part, un ensemble d'êtres vivants : la biocénose. Un écosystème évolue avec le temps, même en l'absence de perturbation extérieure. (source : dossier Santé Environnement, Afsset)
Écotoxicologie	À l'interface entre l'écologie et la toxicologie, c'est la science qui étudie les effets des facteurs chimiques, physiques et biologique sur l'ensemble des êtres vivants.
Effet sanitaire	Conséquence d'un effet biologique qui met en danger le fonctionnement normal d'un organisme et peut donc représenter une menace pour la santé de la personne. (source : dossier Santé Environnement, Afsset)
Endométriose	Pour les femmes, maladie source de stérilité.
Épidémiologie	Science qui étudie la distribution, la fréquence et les déterminants des maladies, des blessures ou de tout autre événement de santé, auprès d'une population et qui applique les données révélées par l'étude au contrôle de ces problèmes de santé. Initialement, l'épidémiologie était la science des

	épidémies des maladies contagieuses, mais elle s'est développée et englobe désormais tous les domaines influençant les maladies et la mortalité. L'épidémiologie tente de décrire les différents facteurs (biologiques, environnementaux, mode de vie, soins de santé) qui influencent la santé en recherchant les causes et/ou les interventions efficaces.
Épigenèse	Théorie selon laquelle l'embryon se constitue graduellement dans l'œuf : par phases successives. Cette théorie est contraire à celle de la préformation.
Étiologie	Discipline qui étudie les causes et les facteurs d'une maladie.
Enzyme	Protéine de l'organisme qui joue, à faible concentration, un rôle de catalyseur biologique.
Exposition (humaine)	On peut la décrire comme la co-existence d'un individu et d'un polluant dans le même micro-environnement, qui mène à l'absorption du polluant. L'exposition s'exprimera différemment suivant le mode d'exposition considéré : par exemple en concentration moyenne inhalée, ou bien en quantité de polluant intégré par jour et par kilogramme de poids corporel.
F	
Fertilité	La fertilité est l'aptitude biologique des couples à obtenir une naissance vivante. (source : Inserm)
Fécondité	La fécondité désigne le nombre d'enfants d'une femme ou d'un couple. (source : Inserm)
Foie	Organe principal du métabolisme.
Follicule	Ensemble de cellules dans les ovaires, contenant l'ovocyte.
Fonction thyroïdienne	Une partie des fonctions endocrines mettant en jeu les hormones sécrétées par la thyroïde, comme la thyroxide et la calcitonine. (source : dossier Santé Environnement, Afsset)
G	
Gamètes	Cellule reproductrice mâle ou femelle.
Glutathion	Cette substance (constituée d'acide aminé) protège les cellules contre l'oxydation ; elle est présente dans tous les tissus de l'organisme.
Gonade	(du gr. <i>gonê</i> , semence) est un organe destiné à la reproduction. C'est une glande sexuelle qui produit les gamètes et sécrète les hormones. Le testicule est la gonade mâle, l'ovaire la gonade femelle.
H	
Homéostasie	Capacité des organismes vivants à maintenir à un niveau constant, les caractéristiques internes (Ex. température, glycémie...)
Hormèse	Méconnu, le phénomène d'hormèse se caractérise par une réponse de stimulation des défenses biologiques qui peut sembler "paradoxe". Par exemple, un agent chimique (polluant ou toxique) peut avoir un effet plus élevé à faible dose qu'à forte dose : forme de la courbe en "U" inversé.
Hormone	Substance sécrétée par une glande endocrine et exerçant une action spécifique sur le fonctionnement d'un ou plusieurs organes ou sur un processus biochimique. (source : dossier Santé Environnement, Afsset)
Hydrolyse	Décomposition de certains composés chimiques dans l'eau.
Hypospadias	Anomalie des voies génitales externes mâles.
Hypothalamus	Partie du cerveau qui intervient, en liaison avec l'hypophyse, sur plusieurs activités du système nerveux et le contrôle du système endocrinien.
I	
Incidence (Taux d'incidence)	L'incidence cumulée mesure le risque de survenue d'une maladie ou de tout autre événement dans une population donnée. Il est calculé en divisant le nombre de nouveaux cas dans une population spécifique, durant une période de temps connue, par la population au début de la période. (source : dossier Santé Environnement, Afsset)
Insuline	L'insuline est une hormone qui régule la concentration de sucre dans le sang. (source : OMS)
L	
Ligand	Molécule qui se lie de manière réversible sur une cible (macromolécule, protéine...).
Lipophile	Se dit d'une substance chimique qui a une certaine affinité pour les corps gras (lipides) et est mieux à même de traverser une membrane constituée de lipides
M	
Métabolisme	Ensemble des transformations moléculaires et dépenses énergétiques qui se produisent dans les cellules d'un organisme vivant.
Métabolite	Produit de transformation d'une substance dans un organisme. D'après l'Inserm : "Une fois formés, les métabolites sont excrétés dans l'urine par le rein ou éliminés dans les fèces via la bile. L'excrétion dans le lait maternel peut également intervenir de façon substantielle (PBDE, phtalates, Bisphénol A)".
Micro-organisme	Etre vivant invisible à l'œil nu tel que les bactéries et les virus (autrefois appelé microbe).

N

Nanogramme	Un milliardième de gramme.
-------------------	----------------------------

O

Obésité	<p>Le surpoids et l'obésité se définissent comme une accumulation anormale ou excessive de graisse corporelle qui peut nuire à la santé.</p> <p>L'indice de masse corporelle (IMC) est une mesure simple du poids par rapport à la taille couramment utilisée pour estimer le surpoids et l'obésité chez l'adulte. Il correspond au poids divisé par le carré de la taille, exprimé en kg/m².</p> <p>L'OMS définit :</p> <ul style="list-style-type: none"> • le surpoids comme un IMC égal ou supérieur à 25 ; • l'obésité comme un IMC égal ou supérieur à 30.
Œstradiol	Principale hormone œstrogène sécrétée par l'ovaire.
Œstrogène	Hormone sécrétée par l'ovaire.
Oligomère	(du gr. <i>oligos</i> , peu) se dit d'un composé constitué d'un petit nombre d'unités monomères : entre deux et quelques dizaines.
Ovaires	Gonades femelles où se produisent les ovules.
Ovocytes	Cellules germinales femelles : quelques-unes évolueront en ovules après maturation.
Ovogenèse	Production d'ovocytes aptes à la fécondation. (source : Inserm)
Ovule	Gamète femelle apte à être fécondée.

P

Perturbateur endocrinien	Un perturbateur endocrinien (PE) est une substance ou un mélange exogène altérant les fonctions du système endocrinien et induisant donc des effets nocifs sur la santé d'un organisme intact, de ses descendants ou sous-populations. (source : Communauté européenne, 1999)
Polyéthisme	Division du travail chez les animaux sociaux (Ex. abeilles)
Polymérisation	Réaction chimique qui enchaîne des petites molécules pour en faire des composés de masse moléculaire plus élevée (macromolécules), ex. dans l'industrie textile, des résines ou des plastiques sont fixés à des matières textiles, au moyen de la chaleur.
Polymorphisme génétique	Formes (variations) diverses d'un gène d'un individu à l'autre. Il se traduit par des différences entre les protéines.
Prévalence	Nombre de cas d'une maladie, ou de tout autre problème de santé, dans une population définie à un moment donné. (source : dossier Santé Environnement, Afsset)
Protéine	Élément essentiel de la vie de la cellule, la protéine est une macromolécule composée d'une ou plusieurs chaînes d'acides aminés (Il s'agit de molécules composées en grande majorité de carbone, hydrogène et azote. Le vivant est composé de vingt acides aminés).
Puberté	La puberté correspond à l'ensemble des transformations de l'adolescence (activation de la fonction hypothalamo-hypophyso-gonadique) aboutissant au développement complet des caractères sexuels, à l'acquisition de la taille définitive, de la fonction de reproduction et de la fertilité.

R

Récepteur nucléaire	Protéine active dans le noyau des cellules, après avoir fixé une substance représentant un signal (Ex. hormone). Elle modifie alors l'expression des gènes.
----------------------------	---

S

Spermatogénèse	Produit des spermatozoïdes de façon continue, de la puberté à la sénescence (vieillesse) chez le mâle.
Spermatozoïdes	Gamète mâle produite par l'appareil reproducteur de l'homme.
Stéroïdes	Hormone dérivée des stérols (Ex. cholestérol, hormones sexuelles...) et sécrétée par les glandes endocrines.
Stéroïdogénèse	Synthèse hormonale. (source : Inserm)
Substance reprotoxique	Substance et préparation qui, par inhalation, ingestion ou pénétration cutanée, peut produire ou augmenter la fréquence d'effets nocifs non héréditaires dans la progéniture ou porter atteinte aux fonctions ou capacités reproductives. (source : Afsset)

T

Testicule	Glande endocrine qui élabore les spermatozoïdes et sécrète les hormones mâles.
Testostérone	Hormone stéroïdienne sécrétée par les testicules.
Tissu adipeux	Tissu conjonctif qui comprend des fibres et une importante proportion de cellules graisseuses appelées "adipocytes".
Toxicologie	C'est la science qui étudie les effets néfastes des substances chimiques sur un organisme vivant,

	l'animal le plus souvent. Elle suit des protocoles expérimentaux décrits et validés au niveau international. Elle tente de décrire, en fonction des niveaux de doses d'exposition chez l'animal, les différents types d'effets néfastes observés et/ou leur probabilité de survenue. (source : dossier Santé Environnement, Afsset)
Tractus génital	Appareil reproducteur.
X	
Xénobiotique	Substance étrangère à l'organisme vivant.

Mentions légales

Ce dossier a été réalisé par l'Agence nationale de sécurité sanitaire Alimentation Environnement Travail (Anses) en collaboration avec le Ministère de l'Écologie du Développement durable et de l'Énergie (MEDDE) dans le cadre de l'animation et de la valorisation du Programme National de Recherche sur les Perturbateurs Endocriniens (PNRPE) et de la Conférence internationale des 10 et 11 décembre 2012 à Paris.

Nous remercions l'ensemble des contributeurs, et plus particulièrement Yoann Bailleul, Émilie Brisorgueil, Claire Beausoleil, William Bourguet, Paulina Cervantés, Fabrice Coutureau, Aude Estève, Marie Fillon, Pierre Jouannet, Céline Lacour, Gérard Lasfargues, Louis Laurent, Céline Leterq, Albane le Maire, Lionel Moulin, Jean-Nicolas Ormsby, Rémy Slama, Dominique Thierry et Anne Tilloy.

Directeur de la publication :

Marc MORTUREUX (Directeur Général, Anses)

Conception et réalisation :

Nathalie RUAUX (Direction Recherche et Veille, Anses)

Remerciements pour les crédits photographiques :

Sauf mention contraire, les illustrations proviennent de la banque d'images Getty. Les photographies fournies par les chercheurs sont libres de droit et/ou disponibles selon les termes de la *Creative Commons Paternité version générique 2.5* ou versions ultérieures (inspirés des termes de la GNU Free Documentation Licence) : <http://creativecommons.org/licenses/>

Deuxième édition (janvier 2013)

