

LES CAHIERS DE LA RECHERCHE

Santé, Environnement, Travail

Les perturbateurs endocriniens *Comprendre où en est la recherche*

JUILLET 2019

Édition scientifique

Editorial

Pour réduire l'exposition de la population et de l'environnement aux perturbateurs endocriniens, la France est le premier pays à s'être doté d'une stratégie nationale sur les perturbateurs endocriniens (SNPE), mise en œuvre dans le plan national Santé-Environnement 2015-2019 (PNSE 3). Dans un contexte où l'incertitude sur les risques encourus, sur les mécanismes d'action et les effets de ces substances reste forte, la recherche est au cœur de la stratégie. Elle vise notamment à acquérir de nouvelles connaissances pour alimenter l'expertise dans ce domaine et développer des tests permettant de mesurer l'effet de ces substances sur les systèmes biologiques. Mobiliser la communauté scientifique sur la thématique de l'exposome chimique, auquel les perturbateurs endocriniens participent, constitue par ailleurs l'un des défis majeurs de la recherche dans le domaine de la santé environnementale pour les prochaines années.

Depuis 2014, l'Anses anime le programme national de recherche Environnement-Santé-Travail (PNR EST) inscrit dans la SNPE. Ce nouveau numéro des *Cahiers de la Recherche* est consacré à ces projets.

Le PNR EST a permis de soutenir plus d'une trentaine de projets de recherche sur le sujet des perturbateurs endocriniens, dont treize au cours de la seule année 2018 grâce à une enveloppe supplémentaire de deux millions d'euros. Il contribue au renforcement de l'expertise de l'Anses dans ses missions d'évaluation des risques et de conseil aux pouvoirs publics sur ces substances.

Les travaux d'expertise de l'Anses sur les perturbateurs endocriniens portent sur plusieurs familles de substances chimiques présumées toxiques, au titre de leur influence sur le système endocrinien comme les phtalates, les parabènes, les retardateurs de flamme ou les phénols. Emblématique de ces travaux, le bisphénol A est désormais interdit dans tous les matériaux en contact direct avec les denrées alimentaires¹.

Protéger la santé de tous et préserver l'environnement passe par la substitution, c'est-à-dire la recherche d'alternatives potentielles mobilisant d'autres substances, matériaux ou procédés. Pour certaines pistes d'alternatives encore au stade de la recherche et du développement, les informations scientifiques et techniques disponibles sont encore insuffisantes, ce qui doit inciter à la plus grande prudence en matière de substitution. Parmi les projets financés par le PNR EST présentés dans ces *Cahiers de la Recherche*, cinq portent ainsi sur la recherche de tests, destinés aux entreprises, aux agences réglementaires ou autres instituts, visant à vérifier l'innocuité des substituts. Ces nouvelles méthodes d'essais sont destinées ensuite à entrer dans une démarche de validation internationale, notamment par l'OCDE.

La recherche d'alternatives, qui nécessite une démarche volontariste de la part des industriels et distributeurs, est un domaine évolutif. Actualiser régulièrement les informations à ce sujet est donc nécessaire. Trois projets de recherche évoqués ici se penchent sur les alternatives potentielles au Bisphénol A, s'inscrivant dans la continuité des travaux d'expertise de l'Anses sur cette substance.

Ce numéro des *Cahiers de la Recherche* évoque encore plusieurs projets de recherche visant à améliorer les connaissances scientifiques sur des substances perturbateurs endocriniens ou susceptibles de l'être. L'un d'eux porte sur les retardateurs de flamme. Deux autres évaluent les effets des phtalates

¹ Loi du 24 décembre 2012 adoptée suite à l'avis de l'Anses de septembre 2011.

avec l'exploration d'une piste originale qui se penche, pour la première fois, sur les effets de ces substances sur l'antibiorésistance de deux bactéries pathogènes pour l'homme (*P. aeruginosa* et *L. pneumophila*).

Par ailleurs, comprendre les effets potentiels de l'environnement sur la santé des populations nécessite que des projets de recherche ne ciblent plus uniquement une substance spécifique mais prennent en compte les effets synergiques potentiels des mélanges de contaminants environnementaux. Deux projets de recherche évoqués dans ce numéro s'inscrivent d'ores et déjà dans cette vision intégrative appelée à se développer dans les années qui viennent.

Il convient de souligner que l'approche de plus en plus globale des dangers et des risques et l'introduction de nouveaux concepts comme l'exposome favorise les échanges entre des disciplines scientifiques comme la biologie fondamentale, l'endocrinologie, la neurologie, l'épidémiologie, la toxicologie, l'écologie, l'expologie, les sciences humaines et sociales. Cette mobilisation transversale de la communauté scientifique est particulièrement manifeste sur la thématique de la perturbation endocrinienne.

Pour aller plus loin et accompagner la prochaine Stratégie Nationale sur les Perturbateurs Endocriniens (SNPE 2), l'Anses en lien avec l'ANR et les alliances nationales de recherche, renouvellera son afin de soutenir la dynamique de recherche et l'innovation sur cette thématique sanitaire essentielle.

Dr Roger GENET

Directeur général, Anses

Cahiers de la Recherche LES PERTURBATEURS ENDOCRINIENS		# 13
13	37	2,2
Projets valorisés	Équipes de recherche impliquées	Millions d'euros alloués

Sommaire

Editorial.....	1
Sommaire	3
Introduction générale.....	5
Les interactions entre contaminants chimiques et maladies hépatiques	14
Le hamster sibérien, nouveau modèle d'étude des effets des perturbateurs endocriniens	16
Les perturbateurs endocriniens, une nouvelle piste pour expliquer la sclérose en plaques ?.....	18
Polluants organiques persistants et cancers hormono-sensibles.....	20
Pesticides, perturbateurs endocriniens de la glande thyroïde ?	22
Améliorer les tests de criblage des perturbateurs endocriniens.....	25
Validation d'un modèle amphibien pour l'étude des perturbateurs endocriniens	27
Effets d'un substitut potentiel du BPA, le BADGE.....	29
L'impact d'une exposition fœtale à un substituant potentiel du BPA, le BPAF	31
L'exposition humaine au bisphénol S.....	34
Exposition prénatale aux phtalates et neuro-développement du jeune enfant.....	36
Effet des phtalates sur la physiologie des bactéries pathogènes.....	39
Le potentiel d'émission des retardateurs de flamme	42
Abréviations utilisées.....	45
Table des illustrations	48
Mentions légales.....	49
Archives ouvertes.....	50

Avertissement à l'attention des lecteurs

Les présentations des projets de recherche reflètent les points de vue des équipes scientifiques partenaires et n'engagent ni les Ministères de tutelles, ni l'Anses ni les partenaires associés. Pour toute question, les contacts sont indiqués en tête de chaque article.

Retrouvez les *Cahiers de la Recherche* sur le site de l'Agence !

<https://www.anses.fr/fr/content/les-cahiers-de-la-recherche>

t à vos favoris en les ajoutant à la barre de favoris. Importer mes favoris maintenant...

L'Anses Expertise et évaluation Recherche et référence Veille et vigilances Europe et internationale Recrutement Mon compte FR EN

Actualités Nos thématiques Index A - Z Avis, rapports, publications Événements Appels, consultations Presse

anses Agence nationale de l'alimentaire et du travail
Connaître, évaluer, protéger

Rechercher sur le site OK

Accueil > Les cahiers de la recherche

Les cahiers de la recherche

En matière de recherches financées dans le cadre du programme National de Recherche en Santé, Environnement, Travail (PNR-EST) et dans ce domaine, elle a contribué à la thématique de la recherche et de projets est lancé

Cette édition des Cahiers de la recherche est la première édition sur le thème "Radiofréquences et santé". Elle laisse apparaître les retombées du fort investissement des chercheurs dans ce domaine avec l'émergence de nouvelles idées et les premiers résultats. Elle souligne également un autre point positif pour une agence nationale de l'alimentaire et du travail : l'émergence d'une communauté de recherche avec des acteurs confirmés mais aussi, chaque année, de nouveaux entrants qui apportent de techniques et des idées nouvelles.

► Consulter notre dernier numéro : Cahier de la recherche n°9 : "Radiofréquences et santé" (pdf)

Anciens numéros :
Cahier de la recherche n°8 : "Regards sur 10 ans de recherche. Le PNR-EST, de 2006 à 2015" (pdf)

- Avis, rapports, publications
- Avis, rapports sur saisine
- Avis REACH et CLP
- Registre des décisions d'AMM
- Registre des produits biocides
- Registre des avis macroorganismes
- Informations pétitionnaires PPP
- Informations pétitionnaires MFSC
- Fiches de dangers biologiques
- Fiches d'aide à la rédaction des GBPH
- Fiches de maladies animales
- Fiches sur les maladies végétales
- Bibliothèque des documents vétérinaires
- Plaquettes de l'Anses
- Plaquettes de conseils pratiques
- Magazines et périodiques
- Avis du comité de déontologie
- Lettre d'information

<https://www.anses.fr/fr/content/les-cahiers-de-la-recherche>

Introduction générale

Certaines substances chimiques, y compris contenues dans des produits de consommation courante, sont capables d'interagir avec la régulation hormonale des êtres vivants, et susceptibles d'entraîner des effets néfastes sur la santé. Elles sont connues sous le nom de « *perturbateurs endocriniens* » (PE). L'interférence concerne (ou peut affecter) toutes les grandes fonctions des organismes vivants : croissance, reproduction, comportement, nutrition, métabolisme, système nerveux... Chez certaines espèces animales, elle peut aussi provoquer d'autres effets comme le changement de sexe² ou le changement de comportement chez les abeilles.

La définition des perturbateurs endocriniens, la plus communément admise, est celle proposée par l'OMS en 2002 : « *Les perturbateurs endocriniens sont des substances chimiques d'origine naturelle ou artificielle étrangères à l'organisme qui peuvent interférer avec le fonctionnement du système endocrinien et induire ainsi des effets délétères sur celui-ci ou sur ses descendants* ».

Au cours des dernières décennies, des études épidémiologiques ont montré l'accroissement des pathologies touchant les organes de la reproduction ou encore des altérations de la fertilité. Cependant, la compréhension exacte du rôle joué par les perturbateurs endocriniens, leurs modalités d'action, ainsi que la part attribuable de leurs effets dans l'accroissement de ces pathologies et de différentes pathologies de nature très variée (ex. malformations, cancers, maladies métaboliques, troubles du comportement) reste discutée et fait l'objet de débats scientifiques et sociétaux.

Le système endocrinien

La santé dépend du bon fonctionnement du système endocrinien. Celui-ci est composé de plusieurs organes appelées glandes (composées de cellules endocrines), qui produisent des hormones et les libèrent ensuite dans le sang³. Distribuées dans tout l'organisme, les hormones jouent un rôle de « *messager chimique* ». Elles ont des fonctions essentielles et variées ; elles stimulent la croissance et le développement, régulent les pulsions et les humeurs (ex. pulsions sexuelles, violence, colère), contrôlent les grandes constantes physiologiques (ex. température corporelle, glycémie, pression artérielle). Cela signifie qu'une altération du système endocrinien peut perturber notre équilibre et, dans certains cas affecter notre santé.

Le système endocrinien comprend l'ensemble épiphyse, hypophyse et hypothalamus (situé à la base du cerveau), la glande thyroïde (située dans le cou), le thymus (dans le thorax), les glandes surrénales et le pancréas (dans l'abdomen), les ovaires ou les testicules (dans le bassin). Des travaux plus récents montrent que d'autres tissus de l'organisme comme le tissu adipeux peuvent aussi exercer une activité endocrine.

² Ex. développement de poissons hermaphrodites en Grande-Bretagne.

³ Après avoir pénétré le réseau capillaire, les hormones se déversent dans la circulation sanguine jusqu'à des « *récepteurs* » spécifiques, situés dans les tissus ou organes cibles.

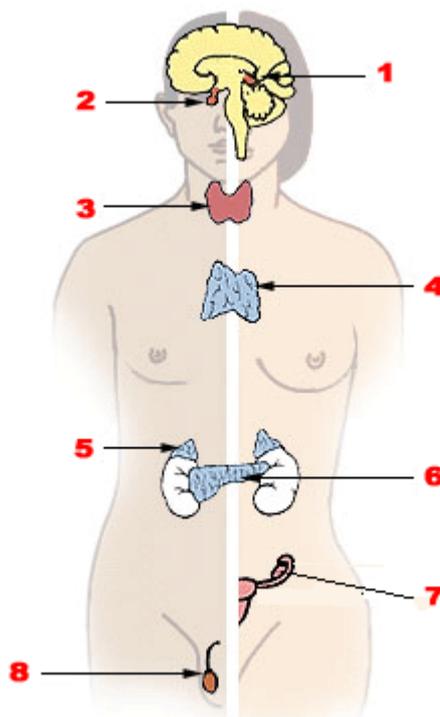


Illustration 1 : Principales glandes du système hormonal (1 et 2, Épiphyse, hypophyse et hypothalamus – 3, thyroïde et parathyroïdes – 4, thymus – 5, surrénales – 6, pancréas – 7, ovaires – 8, testicules)

D'où viennent les perturbateurs endocriniens ?

Les perturbateurs endocriniens sont d'origine parfois naturelle⁴ et souvent artificielle, c'est-à-dire contenus dans certains produits issus de l'industrie chimique ou objets d'usage courant (ex. cosmétiques, détergents, matières plastiques, médicaments, pesticides, textiles). Ils peuvent ainsi être présents dans notre environnement quotidien, de manière diffuse.

Comment les perturbateurs endocriniens agissent-ils ?

Les scientifiques invoquent plusieurs mécanismes. Les perturbateurs endocriniens peuvent par exemple :

- Imiter l'action d'une hormone naturelle et entraîner ainsi la réponse due à cette hormone. C'est l'effet mimétique ou agoniste.
- Empêcher une hormone de se fixer à son récepteur et entraver ainsi la transmission du signal hormonal. C'est l'effet de blocage ou antagoniste.
- Perturber la production/dégradation, ou la régulation des hormones ou de leurs récepteurs.
- Perturber le transport d'une hormone dans l'organisme.

L'un des plus importants défis de la toxicologie

De nombreux effets attribués à la perturbation endocrinienne sont observés à partir d'études expérimentales conduites sur des animaux. L'un des plus importants défis de la toxicologie concerne l'extrapolation possible de ces résultats à l'Homme. Si les effets toxiques des perturbateurs

⁴ Hormones et phytoestrogènes.

endocriniens sont clairement établis à forte dose⁵, la question des effets à faibles doses et à très long terme (voire, transgénérationnels) sur la santé humaine reste actuellement posée. Par ailleurs, comme pour les autres substances chimiques, la prise en compte de leurs interactions se doit d'être précisée.

- **La faible dose (d'exposition)**

La notion de faible dose est d'abord apparue dans le domaine de la radioprotection⁶. Dans ce domaine la question de possibles effets sanitaires des rayonnements ionisants à un niveau (très) faible, en dessous des limites d'exposition définies par la réglementation est posée. 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 sanitaire de référence (par exemple, la dose journalière tolérable) ou quand tous les outils d'investigation du vivant commencent à « ne plus rien voir »⁷.

Cette notion est étroitement liée à celle de seuil toxicologique. Habituellement, en dessous d'un certain niveau d'exposition, les mécanismes de défense de l'organisme permettent d'éviter l'apparition d'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 n'observe pas d'effet de seuil, au moins à l'échelle d'une population ; on postule donc que des effets sont possibles même à faible dose et que c'est la probabilité d'apparition de l'effet délétère qui varie avec la dose. Certaines substances perturbateurs endocriniens sont suspectées d'avoir des mécanismes d'action analogues.

- **Les relations dose-réponse non monotones**

Traditionnellement, les effets des substances chimiques sont décrits, dans les études de toxicologie, suivant une courbe dose/réponse monotone⁸. Mais, des toxicologues ont remarqué que certaines substances chimiques, comme le BPA, pourraient suivre des courbes non monotones, c'est-à-dire avoir des effets plus importants à faible dose (voire, opposés) à ceux observés à fortes doses. On observe ainsi des exemples, où la relation dose-effet dessine une courbe en « U » ou en « U » inversé avec des effets à faibles doses plus forts qu'à dose moyenne.

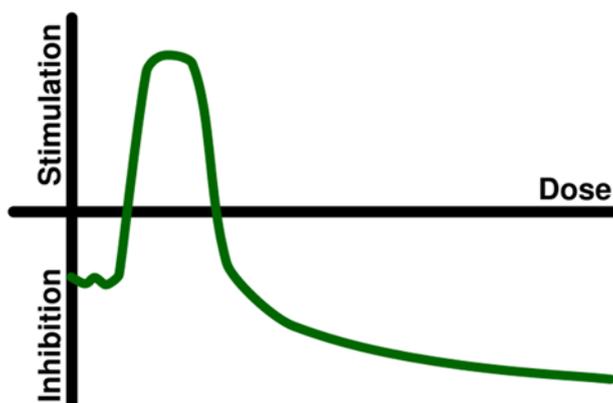


Illustration 2 : Courbe en « U » inversé

⁵ Par des études expérimentales chez l'animal ou le suivi de populations exposées en milieu professionnel.

⁶ Protection de la santé contre les effets des rayonnements ionisants.

⁷ Selon la définition adoptée par le National Toxicology Program (NTP) aux États-Unis : « dose sans effet décelable par les outils d'investigations du vivant ».

⁸ Lorsque l'effet augmente ou stagne avec la dose.

- **La 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 (comme le cancer du vagin, par exemple) peut avoir pour origine une exposition fœtale⁹.

D'une manière générale, des travaux montrent que la sensibilité aux perturbateurs endocriniens peut varier selon les périodes de la vie. Ainsi, certaines populations (ex. femmes enceintes, nourrissons, jeunes enfants) présentent une sensibilité accrue à ces substances. Il est donc nécessaire de prendre en compte la période d'exposition aux perturbateurs potentiels (ou fenêtre d'exposition) dans l'analyse de leurs effets.

Tous ces effets rendent la gestion des risques associés aux PE complexe et difficile. Enfin, divers composés suspectés d'être des PE sont omniprésents dans l'environnement. L'être humain se trouve ainsi exposé par de multiples voies (ex. ingestion, inhalation, contact cutané) et de multiples milieux à des doses faibles de plusieurs composés, dont les effets peuvent être variés et parfois se combiner.



Illustration 3 : Omniprésence des perturbateurs endocriniens (Crédits : iStock by Getty Images)

La compréhension des effets des perturbateurs endocriniens demande ainsi d'adopter une vision intégrative en plaçant l'homme dans son environnement (exposome¹⁰) et de comprendre les interactions entre substances chimiques au sein de l'organisme humain sur le long terme, dès la période du développement fœto-embryonnaire.

- **La problématique des mélanges de substances chimiques**

L'étude de la toxicité des substances chimiques distingue, pour chaque substance, ses différentes « cibles » (en termes d'organes ou de fonction biologique) et ses mécanismes d'actions conduisant à des effets sanitaires pour l'espèce étudiée (Homme ou animal). Lorsque l'exposition est composée de plusieurs substances chimiques, se pose la question de la manière de prendre en compte leur effet combiné. Selon les cas, ils peuvent être : sans interaction notable, antagonistes (l'effet combiné est inférieur à l'effet de l'une des

⁹ Emmanuelle Fillion, Didier Torny. Distilbène, quelles leçons sociologiques ? : Distilbène : quelles leçons sociologiques ? Une expérience médicale et sociale des perturbateurs endocriniens. *Les cahiers de la Recherche. Santé, Environnement, Travail*, ANSES, 2012, Les perturbateurs endocriniens, pp.39-41. <https://www.anses.fr/fr/content/les-cahiers-de-la-recherche> . [anses-01685730](https://www.anses.fr/fr/content/les-cahiers-de-la-recherche)

¹⁰ En France, le concept d'exposome a été introduit dans le 3^e Plan National Santé Environnement (PNSE 3) 2015-2019 puis, ré-introduit dans le projet de loi de modernisation du système de santé en deuxième lecture au Sénat (2015) : <https://www.legifrance.gouv.fr/affichLoiPubliee.do?type=general&idDocument=JORFDOLE000029589477>

substances), additifs (l'effet combiné correspond à la somme des deux effets isolés), synergiques (l'effet combiné est supérieur à la somme des deux effets isolés).

Quelques tendances se dégagent à ce sujet :

- Lorsque des substances ont le même mode d'action (même organe cible, même mécanisme), 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.
- Dans le cas des substances qui appartiennent à des catégories différentes (avec des modes d'action différents), les effets sont moins prévisibles et s'inscrivent dans l'une des quatre situations ci-dessus.

Ainsi, parmi les projets présentés dans ce numéro des *Cahiers de la Recherche* :

- Le projet XENOMIX¹¹ étudie les effets synergiques potentiels de mélanges de contaminants environnementaux ;
- Le projet MADONNA¹² s'interroge sur l'impact d'un mélange de molécules chimiques sur la différenciation cellulaire et le lien éventuel avec la sclérose en plaques.

Comment identifier (puis classer) les substances PE ?

À l'heure actuelle, plusieurs règlements européens régissent les produits chimiques. Il existe d'une part, des dispositifs d'encadrement dits « *sectoriels* » (ex. produits biocides, phytopharmaceutiques, cosmétiques, médicaments) et d'autre part, des dispositifs transversaux (ex. REACH, CLP).

En ce qui concerne les substances relevant de la réglementation européenne sur les produits phytopharmaceutiques (pesticides) et les produits biocides, une étape a été franchie le 13 décembre 2017 lorsque les 28 pays de l'Union européenne ont adopté, après plusieurs mois de discussions, une définition « opérationnelle » des perturbateurs endocriniens¹³. Dorénavant, pour identifier une substance phytopharmaceutique ou biocide comme perturbateur endocrinien, il faut répondre à trois conditions c'est-à-dire démontrer que :

1. La substance a un mode d'action qui altère la régulation du système hormonal ;
2. Elle produit un effet négatif pour la santé ;
3. L'effet négatif résulte directement de ce mode d'action.

L'EFSA et l'ECHA ont élaboré des lignes directrices pour expliquer comment appliquer ces critères d'identification¹⁴. La mise en œuvre de ces critères devrait désormais s'étendre à d'autres usages (ex. produits cosmétiques, jouets, emballages alimentaires). En effet, les propriétés qui font qu'une

¹¹ Exacerbation de la toxicité d'une substance par une autre. Plus encore que les effets susceptibles d'addition, les effets de synergie sont une des préoccupations majeures de la toxicologie actuelle. Cf. Laila Mselli-Lakhal, *Les interactions entre contaminants chimiques et maladies hépatiques*, art. pp. 14-15

¹² Cf. Jean-Baptiste Fini et Sylvie Remaud, *Les perturbateurs endocriniens, une nouvelle piste pour expliquer la sclérose en plaques ?* art. pp. 18-19

¹³ À partir des critères établis par la Commission européenne, basés sur la définition de l'OMS.

¹⁴ *Guidance for the identification of endocrine disruptors in the context of Regulations* (EU) No 528/2012 and (EC) No 1107/2009, en vigueur depuis le 7 juin 2018.

substance chimique est à classer comme perturbateur endocrinien, ne dépendent pas de l'utilisation qui est faite de cette substance.

Afin de protéger au mieux les citoyens européens et l'environnement, les efforts portent notamment sur la recherche de tests destinés aux acteurs économiques et permettant de vérifier l'innocuité des substituts et de nouveaux composés chimiques. Au niveau international, L'OCDE¹⁵ a mis depuis plusieurs années, l'accent sur **le développement de protocoles d'essais toxicologiques et écotoxicologiques** afin d'évaluer le caractère PE des substances chimiques et protéger *in fine* la santé humaine. L'amélioration de ces tests réglementaires reste un défi majeur.

- Le projet THYROGENOX¹⁶ est l'occasion de tester et de proposer de nouveaux outils d'analyse pour évaluer la capacité des pesticides à agir comme des perturbateurs endocriniens de la glande thyroïde.
- Le projet AIDEZ¹⁷ propose d'optimiser l'imagerie de la fluorescence dans les lignées de poissons-zèbres transgéniques, pour permettre une acquisition rapide des données et améliorer le criblage des PE - facilitant ainsi la prise de décision législative des organismes de santé publique.
- Pour permettre une analyse prédictive (en amont) du risque sanitaire, le projet IncuPE¹⁸ propose une stratégie, qui repose sur l'utilisation d'un dispositif de vidéo microscopie, pour analyser les effets des polluants organiques persistants (POP) sur la signalisation hormonale et l'incidence (ou l'agressivité) de cancers hormono-sensibles.
- L'objectif du projet Candyfrog¹⁹ est d'établir un modèle amphibien (*Xénope tropicalis*) pouvant prédire les effets métaboliques (ex. diabète, obésité) transgénérationnels des PE.
- Le projet SeasonDisruptor²⁰ propose un nouveau modèle, le hamster sibérien, pour étudier les mécanismes d'action des perturbateurs endocriniens sur l'hormone thyroïdienne²¹ en lien avec les variations saisonnières.



Illustration 4 : SGH 08 « Danger pour la santé »

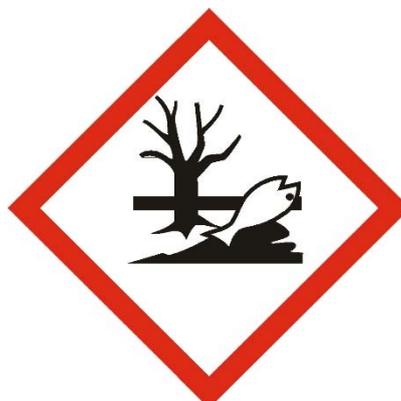


Illustration 5 : SGH 09 « Danger pour l'environnement »

¹⁵ Organisation de coopération et de développement économiques.

¹⁶ Cf. Frédéric Flamant, *Pesticides, perturbateurs endocriniens de la glande thyroïde ?* art. pp. 22-24

¹⁷ Cf. Nathalie Hinfray, *Améliorer les tests de criblage des perturbateurs endocriniens*, art. pp. 25-27

¹⁸ Les composés étudiés appartiennent à des familles de polluants répertoriés par l'Anses et l'ECHA ; ils sont inscrits, pour certains, à la SNPR 2015-2019. Cf. Nicolas Chevalier, *Polluants organiques persistants et cancers hormono-sensibles*, art. pp. 20-22

¹⁹ Cf. Stéphane Reynaud, *Validation d'un modèle amphibien pour l'étude des perturbateurs endocriniens*, art. pp. 27-29

²⁰ Cf. Valérie Simonneaux, *Le hamster sibérien, nouveau modèle d'étude des effets des perturbateurs endocriniens ?* art. pp. 16-17

²¹ Mécanismes liés aux phénomènes de signalisation et de régulation de l'organisme.

L'acquisition de nouvelles connaissances sur les substances chimiques

De nombreuses substances chimiques sont suspectées d'avoir des propriétés de perturbateurs endocriniens. Parmi celles-ci figurent les bisphénols, les phtalates, les parabènes, les composés bromés, perfluorés, alkylphénols... Le bisphénol A (BPA) est emblématique du travail mené par l'Anses sur les perturbateurs endocriniens.

- **Le bisphénol A ou BPA**

Le bisphénol A est une substance chimique de synthèse utilisée, depuis les années 1960, dans un grand nombre d'applications industrielles. La fabrication de plastique (de type polycarbonate) constitue une part majoritaire de son utilisation ; une autre part importante sert à la synthèse de résines époxydes²², notamment utilisées dans des matériaux au contact des denrées alimentaires. Le BPA est aussi utilisé comme composant de diverses résines (ex. polyester, polysulfone, polyacrylate, vinylesters). Il intervient dans la synthèse de certains retardateurs de flamme et comme révélateur dans les papiers thermiques (ex. tickets de caisse, reçus de cartes bancaires).



Illustration 6 : Bouteille en plastique (Crédits : iStock by Getty Images)



Illustration 7 : Dans la catégorie 7, on trouve divers plastiques dont les polycarbonates qui peuvent contenir du BPA

Suite aux conclusions de l'expertise collective menée par l'Anses (sept. 2011), qui recommandaient de réduire l'exposition des populations les plus sensibles (nourrissons, jeunes enfants et femmes enceintes ou allaitantes), le Parlement français adopte une loi visant à la suspension de la fabrication, de l'importation, de l'exportation et de la mise sur le marché de tout conditionnement à vocation alimentaire contenant du BPA²³.

Sur une demande de la France²⁴, la Commission européenne adopte ensuite, en juillet 2016, une proposition de classification du BPA comme toxique pour la reproduction de catégorie 1B. Puis, une nouvelle proposition de restriction du BPA²⁵ dans certains articles destinés au grand public, comme les tickets thermiques, conduit à une mesure de restriction publiée par la Commission européenne en décembre 2016. Au vu de l'ensemble des préoccupations

²² Communément « époxy ».

²³ Loi 2012-1442 du 24 décembre 2012, mise en vigueur 1^{er} janvier 2015.

²⁴ Demande instruite par l'Anses.

²⁵ Demande instruite par l'Anses dans le cadre du règlement (CE) No 1907/2006 (18 déc. 2006) concernant l'enregistrement, l'évaluation et l'autorisation des substances chimiques, ainsi que les restrictions applicables à ces substances REACH.

sanitaires et des mesures réglementaires qui visent le BPA, il apparaît légitime de rechercher des alternatives moins dangereuses à cette substance.

Toutefois, en l'absence de données scientifiques les concernant, aucune alternative ne se démarque. C'est dans ce cadre que l'Anses lance un appel à contributions pour collecter toutes données disponibles concernant les produits de substitution possibles, s'assurer de l'innocuité des substituts potentiels et documenter leur efficacité. Elle publie en 2013 une nouvelle évaluation des risques sanitaires associés au BPA, accompagnée de trois rapports²⁶. La complexité et l'ampleur des questions posées conduisent l'Agence à inscrire ces travaux dans la durée et formuler, substance par substance, des recommandations de recherche visant à compléter les informations sur la toxicité des alternatives potentielles. En réponse à ces préoccupations, voici trois de ces projets de recherche financés dans le cadre du PNR EST :

- Le projet BADGERM²⁷ étudie les effets du BADGE, qui présente une structure chimique proche du BPA, sur le développement des cellules germinales fœtales chez la souris et l'homme.
- Le projet BODY²⁸ entre dans le cadre d'une évaluation des risques pour des populations vulnérables ou sensibles (exposition *in utero*) et pour des populations exposées (travailleurs) au BPAF, bisphénol fluoré.
- En raison du potentiel perturbateur endocrinien du BPS comparable à celui du BPA, le projet PhenoMenExpo²⁹ consiste, à partir de données pharmacocinétiques, à construire un modèle physiologique pour prédire l'exposition interne au BPS pour les principales voies d'expositions (orale et cutanée).

- **Les phtalates**

Parmi les substances chimiques présumées toxiques pour la reproduction humaine³⁰, certains phtalates sont des plastifiants, notamment utilisés dans la fabrication du polychlorure de vinyle (PVC) auquel il confère la flexibilité voulue et facilitent sa mise en forme. On les retrouve donc dans des centaines d'articles ou de consommation courante tels que des jouets et équipements en matière plastique.

Plusieurs études fondées sur l'observation du comportement des enfants de 0 à 36 mois montrent que le plastique est le matériau le plus couramment mis en bouche, suivi par les textiles.

- Parmi les hypothèses qui permettraient d'expliquer l'augmentation de l'incidence des troubles neuro-développementaux, le projet CNAP³¹ axé sur les phtalates se concentre sur le neuro-développement des jeunes enfants.
- Le projet IMPERIAL³² explore, quant à lui une autre piste originale. Il évalue, pour la première fois, les effets des phtalates sur l'antibiorésistance de deux bactéries, *Pseudomonas aeruginosa* et *Legionella pneumophila*, pathogènes pour l'homme.

²⁶ Un état des lieux des alternatives possibles au BPA, une évaluation des dangers d'autres composés de la famille des bisphénols (bisphénols S, F, M, B, AP, AF et BADGE) et un rapport sur les incertitudes entourant les perturbateurs endocriniens.

²⁷ Cf. Virginie Rouiller-Fabre, *Effets d'un substitut potentiel du BPA, le BADGE*, pp. 29-31

²⁸ Cf. Gabriel Livera, *L'impact d'une exposition fœtale à un substituant potentiel du BPA, le BPAF*, art. pp. 31-33

²⁹ Cf. Véronique Gayraud, *L'exposition humaine au bisphénol S*, art. pp. 34-35

³⁰ Catégorie 1B au titre du règlement CLP.

³¹ Cf. Claire Philippiat, *Exposition prénatale aux phtalates et neuro-développement du jeune enfant*, art. pp. 36-38

- **Les retardateurs de flamme**

L'utilisation de retardateurs de flamme dans les matelas et les meubles rembourrés pour réduire le risque d'incendies domestiques fait l'objet de débats depuis plusieurs années. Les discussions portent, d'une part sur leur efficacité réelle contre le risque incendie³³ et d'autre part, sur les risques potentiels pour la santé et l'environnement liés à l'exposition à ces substances chimiques. Malgré leur interdiction par certaines réglementations internationales et leur utilisation en baisse, les retardateurs de flamme polybromés peuvent encore être utilisés dans les matériaux ignifugés.

- Suite aux rapports d'expertise publiés par l'Anses³⁴, le projet EMIFLAMME³⁵ vise à améliorer les connaissances sur l'exposition et les risques afférents aux ignifugeants présents dans le mobilier mis sur le marché en France.

³² Cf. Sylvie Chevalier, *Effet des phtalates sur la physiologie des bactéries pathogènes*, art. pp. 39-41

³³ Il n'existe pas de statistiques fiables sur les causes des incendies en France : en raison notamment de la difficulté à cerner précisément l'origine de ces incendies.

³⁴ *Évaluation des risques liés à l'exposition aux retardateurs de flamme dans les meubles rembourrés*, Anses, Rapports d'expertise collective, sept. 2014 et sept. 2015

³⁵ Cf. Clémence Rawas, *Le potentiel d'émission des retardateurs de flamme*, art. pp. 42-44

Les interactions entre contaminants chimiques et maladies hépatiques

Activation synergique de récepteurs nucléaires par des mélanges de xénobiotiques

Laila MSELLI-LAKHAL, Inra UMR 1331
Toxalim, Toulouse

Marina Grimaldi, IRCM Inserm U896 CRLC,
Montpellier / **William Bourguet**, CBS CNRS
UMR 5048 Inserm U1054, Montpellier

Étude en cours depuis 2016 (durée : 40 mois)
– *Financement : 197.585 €* - *Contact :*
laila.lakhal@toulouse.inra.fr

Mots-clés : stéatose hépatique, pathologie du foie, cirrhose, hépatocarcinome, foie, suralimentation, obésité, diabète, insulino-résistance, maladie métabolique, produit chimique, contaminant, xénobiotique, mélange, environnement, plastifiant, composé organochloré, pesticide, perturbateur endocrinien, récepteur nucléaire, toxicologie, exposition multiple, mélange, risque sanitaire, synergie, criblage, in vitro, in vivo, œstrogène, éthinyloestradiol

Les stéatoses hépatiques non alcooliques (aussi appelées NAFLD³⁶) sont des maladies de plus en plus répandues dans les pays occidentaux. Leur prévalence, selon l’OMS³⁷, se situe entre 20 et 40%. Ces maladies du foie, qui se déclarent chez des personnes qui ne boivent pas ou très peu d’alcool, représentent un ensemble de désordres hépatiques, allant d’une simple accumulation de graisse dans le foie (stéatose) à une inflammation plus grave (NASH³⁸) pouvant évoluer en cirrhose et en carcinome hépatocellulaire.

Une des causes de ces maladies hépatiques est la suralimentation ou la malbouffe. Les autres facteurs de risques comportent l’obésité, le diabète, la résistance à l’insuline et les altérations cardiovasculaires (ex. taux élevé de

³⁶ De l’anglais, "Non-alcoholic fatty liver disease".

³⁷ World Gastroenterology Organisation Global Guidelines, *Stéatose hépatique non alcoolique et stéato-hépatite non alcoolique*, juin 2012, p. 8

³⁸ De l’anglais, "Non-alcoholic Steato-Hepatitis". Maladie aussi appelée « maladie du soda » ou « maladie du foie gras » humain.

cholestérol ou de triglycérides dans le sang). Mais l’augmentation des apports caloriques et la diminution de l’activité physique, au cours de ces dernières années, ne suffisent pas à expliquer l’épidémie actuelle d’obésité et des pathologies métaboliques associées.

Les contaminants chimiques

Les contaminants chimiques, présents dans notre environnement, sont également suspectés d’avoir des propriétés de type obésogène, diabétogène ou stéatogène c’est-à-dire de contribuer au développement de ces troubles métaboliques en perturbant la balance énergétique des organismes. Ceci concerne les plastifiants (comme le bisphénol A ou les phtalates), des composés de la famille des organoétains ou encore certaines substances organochlorées, considérées comme des polluants organiques persistants (comme le DDT utilisé comme pesticide). Comment ces contaminants agissent-ils ?



Illustration 8 : Emballages alimentaires (Crédits : iStock by Getty Images)

Les récepteurs nucléaires

À ce jour, les mécanismes par lesquels ces contaminants contribuent au développement des NAFLD restent méconnus. L’activation inappropriée de deux récepteurs nucléaires, comme PXR et PPAR γ , pourrait y contribuer. En effet, ces facteurs de transcription jouent un rôle important dans l’expression des gènes impliqués dans les phénomènes de détoxification cellulaire :

- PXR, récepteur impliqué dans le métabolisme des médicaments ;

- PPAR γ , récepteur des acides gras³⁹.

Or, ces deux récepteurs sont activés par des ligands (lipophiles) ; ils ont une poche de liaison volumineuse, susceptible d'accueillir des combinaisons de plusieurs molécules et de conduire à de possibles interactions ou effets synergiques entre les différents types de contaminants.

Le projet de recherche : XENOMIX

Une des préoccupations majeures de la toxicologie actuelle concerne précisément l'évaluation des risques sanitaires liés à une exposition multiple aux contaminants environnementaux. En effet, il est fréquemment avancé que des effets susceptibles d'addition, et pire de synergie, des différents contaminants ne sont pas actuellement pris en compte dans les procédures actuelles d'évaluation du risque.

Le but du projet XENOMIX est d'étudier les effets synergiques potentiels de mélanges de contaminants environnementaux (xénobiotiques) sur l'activation des formes murines et humaines des deux récepteurs nucléaires, PXR⁴⁰ et PPAR γ ⁴¹.

Méthodologie

Le projet comporte trois types d'approches :

- Un criblage *in vitro* de 320 xénobiotiques comprenant entre autres le TNC, l'EE2, le MEHP, le PFOA et leurs analogues ;
- Une analyse biochimique et cristallographique pour caractériser l'interaction entre les composés seuls ou en mélange et les récepteurs nucléaires ;
- Une étude *in vivo* à l'aide de souris sauvages et transgéniques invalidées pour

ces récepteurs nucléaires. Cette étude concernera les couples de molécules pour lesquelles les activations synergiques les plus importantes ont été observées *in vitro*.

Résultats *in vitro* préliminaires.

Nous avons observé une synergie de liaison et d'activation du récepteur hPXR par des dérivés du TNC (CNC, CC, heptachlore...) et de l'EE2 (E2, E1).

Nous avons mis en évidence une double liaison de PFOA et MEHP sur hPPAR γ avec cependant une faible synergie d'activation.

³⁹ Il s'agit par exemple, l'expression de l'enzyme responsable des triglycérides.

⁴⁰ Il s'agit notamment de combinaisons entre le transnonachlore et certains de ses analogues et l'éthinylestradiol (EE2) ainsi que d'autres estrogènes.

⁴¹ Il s'agit de combinaisons entre des phtalates et des composés perfluorés.

Le hamster sibérien, nouveau modèle d'étude des effets des perturbateurs endocriniens

Effet des perturbateurs endocriniens thyroïdiens sur la reproduction et le métabolisme ; de l'utilité des espèces saisonnières

Valérie SIMONNEAUX, CNRS, Institut des Neurosciences Cellulaires et Intégratives, Strasbourg

Dominique Ciocca, IFR37-CNRS, Centre de neurochimie, Strasbourg

Projet de recherche en cours depuis 2019 (durée : 36 mois) - Financement : 192.338€ – Contact : simonneaux@inci-cnrs.unistra.fr

Mots-clés : thyroïde, phtalate, métabolisme, glande endocrine, hormone, composé chimique, perturbateur endocrinien, hypothalamus, tancyte, mécanisme action, saison reproduction, bisphénol A, cognition, mélatonine, modèle animal, cellule cible, hamster

L'activité de la glande thyroïde et les effets biologiques des hormones thyroïdiennes (HT) sont particulièrement sensibles à l'action des perturbateurs endocriniens (PE). Or, les HT ont un rôle essentiel dans plusieurs fonctions biologiques telles que le développement (la croissance), la reproduction, le métabolisme ou la cognition.

Parmi les produits industriels qui interfèrent avec la fonction thyroïdienne, le bisphénol A (BPA) et les phtalates sont largement utilisés (ex. cosmétiques, emballages, jouets) et sont suspectés de diminuer les taux de thyroxine (T_4) et de triiodothyronine (T_3)⁴² chez les humains et les animaux. Il est donc essentiel d'examiner les effets de ces perturbateurs endocriniens (PE-HT) et de déterminer leurs mécanismes d'action.

Ces dernières années, nous avons démontré que la production saisonnière d'HT par les

tancytes⁴³ de l'hypothalamus agit sur les structures centrales pour contrôler les rythmes saisonniers de la reproduction et du métabolisme.

Les variations saisonnières

Chez les mammifères, qui vivent en milieu naturel, les rythmes de la reproduction et du métabolisme sont synchronisés avec les variations saisonnières de la photopériode (durée de la phase lumineuse sur 24h) via la mélatonine⁴⁴.

Il a été récemment démontré que les variations saisonnières de la production nocturne de mélatonine (avec une sécrétion proportionnelle à la durée de la nuit) contrôlent la production tancytaire d'HT qui, en aval, agit sur des populations neuronales impliquées dans le contrôle central de la reproduction⁴⁵ et du métabolisme⁴⁶.



Illustration 9 : L'été, le hamster sibérien est sexuellement actif, gros et gris (Auteur : Paul Klosen, INCI Strasbourg)

Le projet de recherche : SeasonDisruptor

L'objectif de ce projet de recherche est d'utiliser un modèle de rongeur saisonnier, le hamster sibérien dont les fonctions

⁴³ Cellules gliales, à l'interface liquide cérébro-spinal-hypothalamus.

⁴⁴ Hormone sécrétée par la glande pinéale uniquement pendant la nuit.

⁴⁵ Deux peptides de l'hypothalamus : Kisspeptine (Kp), RFRP3.

⁴⁶ Somatostatine : hormone protéique inhibitrice de l'hormone de croissance.

⁴² Hormones produites par la thyroïde.

reproductrices et métaboliques peuvent être activées ou inhibées en quelques semaines par une simple modulation de la durée du jour, comme nouveau modèle pour investiguer les effets physiologiques des PE-HT, identifier leurs cibles cellulaires et caractériser leurs mécanismes d'action.



Illustration 10: L'hiver, le hamster sibérien est sexuellement quiescent, maigre et blanc (Auteur : Paul Klosen, INCI Strasbourg)

Méthodologie

L'exposition aux PE-HT (seuls ou en mélange) sera réalisée sur des animaux adultes pendant 10 semaines, durée nécessaire pour observer les changements saisonniers des fonctions reproductrices et métaboliques.

- **Effet des PE-HT sur la régulation photopériodique de la reproduction et du métabolisme** : des hamsters sibériens mâles, élevés en photopériode longue, seront transférés en photopériode courte inhibitrice, pendant 10 semaines. Pendant cette période, ils seront traités ou non avec différentes doses de BPA et/ou de phtalates ; plusieurs paramètres physiologiques et hormonaux seront mesurés à la fin du traitement. L'expérience inverse sera réalisée avec des hamsters sexuellement inactifs en photopériode courte, transférés en photopériode longue activatrice, avec les

mêmes traitements. Des séries d'expériences similaires seront réalisées chez des hamsters femelles afin d'évaluer l'effet sexe-dépendant des PE-HT.

- **Identification des cibles cellulaires des PE-HT** : pour les traitements montrant une altération de la régulation photopériodique, nous identifierons les structures cellulaires⁴⁷ altérées par les PE-HT.
- **Mécanismes d'action des PE-HT** : nous choisirons un type cellulaire dont l'activité est altérée par un PE-HT pour établir ses mécanismes d'action en utilisant des approches *in vitro* combinées à des analyses génétiques et épigénétiques.

⁴⁷ Tanycytes, divers neurones peptidergiques de l'hypothalamus, cellules hypophysaires...

Les perturbateurs endocriniens, une nouvelle piste pour expliquer la sclérose en plaques ?

Impact d'un mélange de molécules chimiques sur la différenciation en oligodendrocytes des cellules souches neurales : lien avec la sclérose en plaques

Jean-Baptiste FINI et Sylvie REMAUD,
CNRS, UMR 7221, CNRS/Muséum national d'Histoire naturelle, Paris

Bernard Zalc, Sorbonne Université, Inserm, CNRS, ICM, GH Pitié-Salpêtrière, Paris

Projet de recherche en cours depuis nov. 2018 (durée : 36 mois) – Financement : 193.893€ – Contact : fini@mhnh.fr

Mots-clés : sclérose en plaques, système nerveux central, démyélinisation, produit chimique, xénotoxique, in vivo, in vitro, perturbateur endocrinien, oligodendrocyte, cellule souche, axone, hormone thyroïdienne, biomarqueur, amphibien, modèle animal

La sclérose en plaques (SEP) est une maladie chronique et évolutive, qui affecte le système nerveux central (SNC)⁴⁸. Selon les estimations, 100.000 personnes en sont atteintes en France et 2.500 nouveaux cas sont diagnostiqués chaque année, avec une prépondérance féminine⁴⁹.

Un mécanisme complexe

La SEP est une maladie auto-immune, c'est-à-dire que le système immunitaire (habituellement impliqué dans la défense de l'organisme) se dérègle et se retourne, pour des raisons méconnues, contre ses propres cellules, détruisant par endroit la myéline⁵⁰ qu'il considère comme étrangère à l'organisme (réaction auto-immune). Ainsi, les parties du SNC touchées ressemblent à des plaques

(lésions) qui altèrent la transmission des influx nerveux. Dans le système nerveux central, la myéline est une membrane synthétisée par les oligodendrocytes, cellules vitales au fonctionnement et à la survie des neurones. Lorsque la myéline est détruite (démyélinisation), la vitesse de conduction de l'influx nerveux est diminuée voir même stoppée (Bloc de conduction); il en résulte des troubles neurologiques.

Chez les vertébrés adultes dont l'Homme, les oligodendrocytes⁵¹ sont générés à partir de cellules souches neurales (SCN), localisées notamment au sein de zones neurogéniques. Les hormones thyroïdiennes (HT) favorisent le développement et la différenciation de ces cellules vers un destin neuronal alors que des mécanismes bloquant leur action, sont nécessaires pour la génération des précurseurs des oligodendrocytes à partir des CSN.

L'exposition chimique

Parallèlement à la prévalence croissante de la SEP, les ventes de produits chimiques continuent d'augmenter en France avec une progression de 3,5% en volume en 2014 par rapport à 2013⁵². Or, des centaines de ces produits ont été identifiées comme de potentiels perturbateurs endocriniens (PE), capables de mimer ou d'empêcher les actions physiologiques régulées par les différentes hormones, notamment les hormones thyroïdiennes.

Dans l'un de nos modèles, l'embryon de *Xénope*, nous avons récemment montré qu'un mélange de produits chimiques communs trouvés chez l'Homme affecte le *ratio* neurone/glie⁵³ lors du développement. De plus, beaucoup de PE de ce mélange⁵⁴ (11 produits

⁴⁸ Composé du cerveau et de la moëlle épinière.

⁴⁹ 3 malades sur 4 sont des femmes. <https://solidarites-sante.gouv.fr/soins-et-maladies/maladies/maladies-neurodegeneratives/article/la-sclerose-en-plaques>

⁵⁰ Sorte de gaine qui protège les fibres nerveuses.

⁵¹ Cellules gliales (névroglie).

⁵² *L'industrie chimique, facteur clé de l'économie française*, Rapport détaillé 2016, UIC, Paris.

⁵³ Tissu conjonctif (environnement des neurones).

⁵⁴ BPA, triclosan, BP-3, 4-4'DDE, HCB, perchlorate, DEHP, DBP, bde209, PCB 153, 2-Naphtol, PFOS, PFOA, méthylmercure et plomb.

sur 15) affectent la signalisation thyroïdienne chez le xénope. Les hormones thyroïdiennes et leur régulation sont extrêmement bien conservées chez tous les vertébrés. Ce mélange pourrait donc avoir un impact non négligeable sur la neurogenèse adulte des vertébrés.

Le projet de recherche : MADONNA

L'hypothèse selon laquelle l'exposition chimique actuelle influence, dans le cerveau en développement et chez l'adulte, le destin des CSN, la maturation des oligodendrocytes et *a fortiori* les capacités de myélinisation/remyélinisation, est une hypothèse originale, non étudiée à ce jour : distincte de celle des autres projets de recherche nationaux et internationaux traitant de la SEP. Si un tel lien entre PEs et détermination gliale est démontré (à l'échelle moléculaire, cellulaire et d'organismes entiers), nos résultats pourraient non seulement contribuer à expliquer la prévalence accrue de la SEP, mais également conduire à une prise de décision de santé publique sur l'usage de certains produits et stimuler les pistes thérapeutiques à l'aide de biomarqueurs pour lutter contre la progression de l'incidence de la maladie.

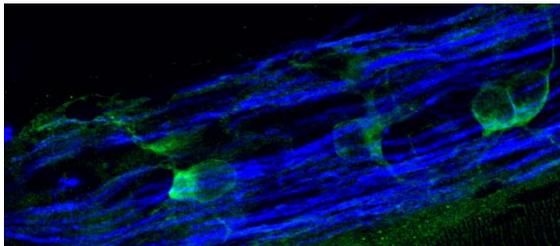


Illustration 11 : Nerf optique de xénope montrant les axones myélinisés (en bleu) et les cellules myélinisantes (oligodendrocytes, en vert) – Auteur : Élodie Martin

Méthodologie

La combinaison d'approches *in vitro* et *in vivo*, menées dans deux groupes de vertébrés (souris adulte et *Xenopus laevis*) permettra d'aboutir à une perspective comparative et évolutive de l'action des PEs sur le développement des

oligodendrocytes. Trois grandes séries d'expériences seront effectuées :

- L'étude des mécanismes cellulaires et moléculaires à partir de cultures de neurosphères issues de CSN de souris adultes. Ainsi nous pourrons étudier l'impact direct sur la détermination oligodendrocytaire d'un mélange de produits chimiques déjà montré comme perturbant les hormones thyroïdiennes
- L'étude *in vivo* (xénope) de l'impact 1) sur la mise en place de la myélinisation lors de l'embryogenèse 2) sur la dynamique de remyélinisation. Ceci à l'aide d'un modèle où une invalidation conditionnelle et spécifique des oligodendrocytes peut être effectuée
- Une analyse transcriptomique (expression des gènes) des cellules gliales chez les deux modèles de vertébrés (neurosphères chez la souris et oligodendrocytes dans le cerveau de xénope)

Polluants organiques persistants et cancers hormono-sensibles

Analyse des effets des perturbateurs endocriniens sur l'agressivité de cellules tumorales hormono-sensibles par vidéoimagerie

Nicolas CHEVALIER, Inserm U1065 et département d'Endocrinologie, CHU de Nice

Stéphan Clavel, Aurélie Charazac et Frédéric Bost, C3M, Inserm U1065, Équipe 5, Nice / **Charlotte Hinault-Boyer**, Inserm U1065 et Laboratoire de Biochimie, CHU de Nice

Étude en cours depuis 2017 (durée : 26 mois) – Financement : 50.000 € - Contact : chevalier.n@chu-nice.fr

Mots-clés : perturbateur endocrinien, polluant organique persistant, polychlorobiphényles, PCB, composé organochloré, pesticide, dioxine, DDT, DDE, aldrine, hexachlorobenzène, exposition chronique, interaction, androgène, œstrogène, hormone, hormone stéroïde, récepteur, tumeur hormonodépendante, cancer, prostate, sein, métastase, cellule tumorale, transduction, apoptose, carcinogénèse, métabolisme, étiologie, hyperplasie, toxicité, toxicologie, vidéomicroscopie, criblage haut débit, fluorescence, chimiotactisme

Les polluants organiques persistants (ou POP en abrégé) se dégradent lentement dans l'environnement. Selon la Convention de Stockholm⁵⁵ qui vise à interdire certains de ces produits, ils sont persistants, bioaccumulables, toxiques et mobiles. Certains de ces polluants, ayant une activité hormono-mimétique, suscitent des inquiétudes liées notamment à la survenue et à la progression de cancers hormono-sensibles (ex. thyroïde, prostate, testicule, sein, ovaire). Mais leur dangerosité reste difficile à évaluer.

Les obstacles méthodologiques

Annuellement, le nombre de molécules mises sur le marché avoisine le millier. Il est donc inenvisageable d'effectuer des études épidémiologiques, permettant d'évaluer la

toxicité, chez l'homme, de l'ensemble des nouvelles molécules. Parallèlement, des études de toxicité peuvent être conduites chez l'animal (ex. larve de xénope, poisson zèbre, rongeur). Toutefois, les résultats produits sont, le plus souvent, difficilement transposables à l'homme⁵⁶ ; ils ne peuvent donc pas faire l'objet, en soi, d'une validation par les organismes sanitaires nationaux ou internationaux. Ces obstacles méthodologiques compliquent considérablement l'étude d'une exposition chronique aux POPs et retardent donc la mise en place des politiques publiques au sujet de la commercialisation de ces composés potentiellement cancérigènes.

Les cancers hormono-sensibles

L'importance de la signalisation hormonale dans la survenue et la progression des cancers de la prostate, du sein et du testicule suscitent des craintes concernant les effets des POPs dans ces cancers :

- Les androgènes, les oestrogènes et d'autres hormones stéroïdiennes jouent un rôle important dans l'étiologie, la progression et le traitement du cancer de la prostate.
- Le rôle des oestrogènes dans le cancer du sein est largement documenté et fait l'objet de nombreuses publications scientifiques ;
- L'absence de modèle animal du cancer du testicule constitue un frein majeur à la compréhension des mécanismes physiopathologiques. Cependant, des études réalisées chez l'homme soulignent également le rôle des oestrogènes dans la régulation de la prolifération cellulaire.

Bien que le rôle de certains POPs dans l'incidence de cancers hormono-sensibles fassent actuellement l'objet de nombreux travaux, leurs effets sur la croissance tumorale

⁵⁵ Entrée en vigueur le 17 mai 2004.

⁵⁶ Systèmes de métabolisation différents, fenêtres de vulnérabilité non strictement superposables.

et sur la formation de métastases restent encore largement méconnus. La métastase correspond à l’envahissement, par les cellules tumorales, des organes et tissus au-delà du site primaire de la tumeur et à la formation de nouvelles tumeurs. Ce processus participe, de manière importante, à la complexité des cancers et, surtout, à la difficulté de prédire et de traiter ces métastases.

Dans ce contexte d’incertitudes sur le rôle exact des POPs, un enjeu scientifique majeur est donc de pouvoir fournir des outils pertinents permettant une analyse prédictive (en amont) du risque sanitaire, notamment cancérogène de ces molécules.

Le projet de recherche : IncuPE

Actuellement, d’importants efforts financiers sont consentis, au niveau international, pour développer des plateformes de tests permettant de déterminer les effets sur la santé humaine, de nouveaux composés présents dans notre environnement⁵⁷. Ces programmes développent des outils d’analyse toxicologique facilitant la prise de décision législative des organismes de santé publique afin de protéger *in fine* la santé humaine. Dans ce contexte, l’objectif du projet IncuPE est de développer un outil d’analyse « haut débit » permettant d’évaluer les effets des POPs sur les capacités migratoires, invasives et prolifératives des cellules tumorales humaines hormono-sensibles.

Les effets d’une dizaine de composés seront étudiés *in vitro* sur des lignées tumorales humaines. Figurent, parmi ces composés qui appartiennent à des familles de polluants répertoriés par l’Anses, l’ECHA et sont inscrits pour certains à la SNPE 2015-2019 :

- Le DDT et son métabolite le DDE, l’aldrine et l’hexachlorobenzène (organochlorés) ;
- Le PFOS et le PFOA (perfluorés) ;
- La TCDD (dioxine) ;
- Les PCB 11, 44 et 153 (polychlorobiphényles).

Méthodologie

Un protocole de recherche hospitalier multicentrique, mis en place sur une cohorte de 200 patients présentant une obésité massive, a permis d’évaluer la cinétique de relargage d’une quarantaine de composés de type POP, après chirurgie bariatrique. À partir de ces données toxicologiques, notre objectif est de réaliser une classification des POPs en fonction de leur potentiels effets pro-métastatiques, afin de prédire le risque associé pour la santé humaine en fonction des doses réellement observées dans la population générale.

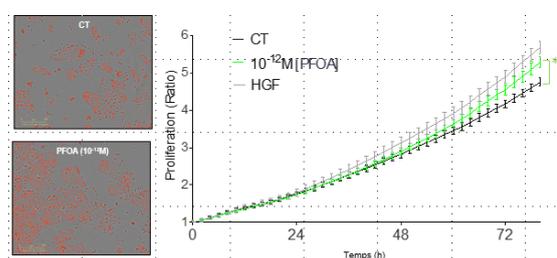


Illustration 12 : Essai de prolifération IncuCyte (DU 145)

Cette stratégie repose sur l’utilisation du dispositif de vidéomicroscopie « IncuCyte ». Ce système, disponible dans le centre de recherche « C3M, U1065 » permet d’obtenir, en temps réel, des images haute définition (transmission & fluorescence) de divers processus cellulaires comme la prolifération, l’apoptose, la survie, la migration et l’invasion cellulaire. Couplé à un système de traitement d’image intégré, ce système permet d’obtenir rapidement, des données quantitatives non biaisées. De plus, le format d’analyse est compatible avec un criblage « haut/moyen

⁵⁷ Ex. “National Toxicology Program for the 21st Century” (Tox21) : <https://ntp.niehs.nih.gov/results/tox21/index.html>

débit »⁵⁸ indispensable à l'étude des POPs : gamme de dose, effet cocktail, dose réponse, cinétique temporelle, etc.

Des résultats préliminaires nous ont permis de valider cette méthode, notamment sur la migration individuelle et collective des cellules tumorales. Ceci va nous permettre maintenant de cribler des dizaines d'autres molécules sur différents types cellulaires 2D. L'une des retombées potentielles est son utilisation en tant que screen à haut débit sur des modèles cellulaires 3D (organoïdes, tumoroïdes), plus pertinents en termes de transposabilité.

Pesticides, perturbateurs endocriniens de la glande thyroïde ?

Perturbation thyroïdienne et neurodéveloppementale par les pesticides

Frédéric FLAMANT, Institut de Génomique fonctionnelle de Lyon, UMR 5242, École Normale Supérieure de Lyon

David Du Pasquier, Watchfrog, Evry

Étude en cours depuis 2016 (durée : 36 mois) – Financement Écophyto : 199.472 € – Contact : Frederic.flamant@ens-lyon.fr

Mots-clés : pesticide, insecticide, organophosphate, piperonyl butoxide, substance active, dose faible, perturbateur endocrinien, métabolite, exposition, enfant, perturbation, hormone thyroïdienne, hypothyroïdie, glande endocrine, thyroïde, thyroxine, chromatine, ligand, antagoniste, récepteur nucléaire, gène, luciférase, cerveau, système nerveux central, neurone, fonction cognitive, protéine ribosomale, transcriptome, toxicologie, *in vitro*, *in vivo*, modèle biologique, animal transgénique, neurotrophine

Parmi les perturbateurs endocriniens, les perturbateurs thyroïdiens posent des problèmes particuliers. S'ils agissent pendant une fenêtre de temps particulière, la vie fœtale ou la petite enfance, ils peuvent potentiellement compromettre, de manière irréversible, le développement cérébral. Parce qu'ils présentent des similitudes de structure avec l'hormone thyroïdienne (T3)⁵⁹, certains composés chimiques sont soupçonnés d'être des perturbateurs thyroïdiens actifs à faible dose.

L'hormone thyroïdienne T3

Parmi les hormones essentielles au bon fonctionnement de l'organisme, l'hormone T3 exerce un contrôle important sur de nombreux processus physiologiques comme la croissance et le développement corporel, le métabolisme, le rythme cardiaque, etc. Elle agit directement sur l'expression des gènes dans de nombreuses

⁵⁸ Plaques 24/48/96 puits.

⁵⁹ Aussi appelée « triiodothyronine ».

cellules, en modifiant la conformation des récepteurs nucléaires : TR α 1 et TR β 1/2. Ses effets sur les tissus cibles sont très puissants⁶⁰.

Il existe, dans le génome, des milliers de sites de fixation des récepteurs nucléaires et des centaines de gènes cibles. Un déficit précoce de T3, appelé hypothyroïdie congénitale, ou une mutation du récepteur nucléaire TR α 1, peut entraîner, un retard mental sévère et irréversible.



Illustration 13 : L'exposition des enfants aux pesticides
(Crédits : iStock by Getty Images)

L'exposition des enfants

L'exposition des enfants en bas âge à des perturbateurs thyroïdiens est ainsi fortement suspectée d'affecter leurs fonctions cognitives. Une exposition modérée (dose faible) pourrait, de même qu'une hypothyroïdie légère⁶¹, entraîner des troubles cognitifs chroniques : déficit de QI, manque d'attention ou de concentration, tendance à la dépression et à l'anxiété.

Or, des données épidémiologiques récentes montrent un défaut de QI chez les enfants exposés aux pesticides. Ces données sont en accord avec des études précédentes qui indiquaient qu'une exposition particulière des enfants aux organophosphates altère leurs fonctions cognitives et peut causer un déficit d'attention. Si ces dommages relèvent d'une perturbation de la signalisation thyroïdienne, alors on doit s'interroger sur les tests de toxicité réglementaires, qui ont conduit à l'autorisation des organophosphates ; ils n'évalueraient pas convenablement la capacité des composés chimiques d'agir en tant que perturbateurs thyroïdiens.

En juillet 2014, un rapport d'expertise commandé par l'OCDE a fait le bilan de 18 tests proposés pour évaluer la capacité de substances chimiques à agir comme des perturbateurs thyroïdiens⁶². Cette multitude de tests s'explique par le fait qu'aucun ne donne entière satisfaction, qu'il soit basé sur l'utilisation de modèles animaux, de modèles cellulaires ou d'analyses moléculaires *in vitro*.

Par ailleurs, les tests *in vivo* sont coûteux et longs. Ils sont souvent pointés du doigt pour des raisons éthiques parce qu'ils conduisent à intoxiquer et sacrifier un grand nombre de rongeurs. Comme ils ne sont, en général, réalisés que sur un petit nombre d'animaux, ils manquent essentiellement de puissance statistique.

Le projet de recherche : Thyrogenox

Dans son rapport de 2016 sur les résidus de pesticides dans l'alimentation, l'EFSA indique que les résidus de pesticides détectés dans l'alimentation européenne se situent dans les limites autorisées par la législation de l'UE :

⁶⁰ Entre trois et cinq fois plus puissants que ceux de la « thyroxine » ou T4 produite en même temps par la thyroïde.

⁶¹ L'hypothyroïdie est progressive : liée au ralentissement du métabolisme (ex. manque d'énergie, fatigue).

⁶² No 207, juillet 2014 :

<http://www.oecd.org/officialdocuments/publicdisplaydocumentpdf/?cote=env/jm/mono%282014%2923&doclanguage=en>

- 96,2% des échantillons des pays déclarant⁶³ ;
- 98,1% des échantillons d'aliments destinés aux nourrissons et aux enfants en bas âge.

Si les risques alimentaires liés à ces niveaux de résidus de pesticides semblent faibles, des incertitudes persistent. Le programme Thyrogenox vise à déterminer si ces niveaux peuvent ou non constituer un réel péril pour la population, notamment pour les jeunes enfants.

Méthodologie

Ce programme est l'occasion de tester et de développer de nouveaux outils d'analyse. Il aborde trois questions :

1. Existe-t-il des pesticides, présents dans l'environnement, qui agissent comme des perturbateurs thyroïdiens à des doses concentrations auxquelles la population est effectivement exposée ?
2. Les mélanges ont-ils un effet synergique ?
3. Les doses d'exposition estimées chez l'Homme, sont-elles en mesure de mettre en péril le neurodéveloppement des fœtus et les capacités cognitives des enfants ?

Parmi les substances actives étudiées figurent l'azoxystrobine⁶⁴, le diénochloré⁶⁵, le pipéronyl-butoxide⁶⁶ et le quinoxyfène⁶⁷.

Dans le cadre d'une étude de faisabilité⁶⁸, nous avons démontré qu'une analyse globale du transcriptome⁶⁹ de cellules neurales murines procurait des avantages décisifs sur les autres approches *in vitro* : vision globale de la réponse cellulaire, définition précise de la voie

de signalisation affectée et puissance statistique inégalable.

Cette approche sera complétée par des tests *in vivo* utilisant notamment des têtards transgéniques. La fluorescence des têtards est une mesure qui s'avère précise, spécifique et reproductible du niveau de signalisation thyroïdienne. Ce test, qui représente une amélioration notable en termes de rapidité, de précision et de puissance statistique, est en cours de validation par l'OCDE ; il a été validé l'AFNOR sous la forme d'une norme expérimentale.

Résultats préliminaires

Plus de 40 pesticides ont déjà été testés *in vitro*. Pour l'instant, aucune des substances testées n'a d'activité reproductible à faible concentration sur tous les tests. Toutefois, des effets significatifs ont été observés dans une partie des tests, qui justifient la poursuite du projet *in vivo*.

⁶³ 84.657 échantillons ont été testés pour 791 pesticides :

<https://www.efsa.europa.eu/fr/press/news/180725>

⁶⁴ Fongicide.

⁶⁵ Acaricide.

⁶⁶ Synergiste utilisé dans la formulation de pesticides.

⁶⁷ Fongicide.

⁶⁸ Toxicogenomic2, étude financée par le PNR EST

⁶⁹ Séquençage de l'ARN ou séquençage aléatoire du transcriptome entier (RNAseq).

Améliorer les tests de criblage des perturbateurs endocriniens

Amélioration des essais *in vivo* pour l'identification des perturbateurs endocriniens à l'aide de poissons zèbres génétiquement modifiés

Nathalie HINFRAY, Ineris,
DRC/VIVA/ECOT, Verneuil-en-Halatte

Hélène Budzinski, Université Bordeaux 1, UMR
CNRS 5805 EPOC-OASU, équipe LPTC, Talence

Étude en cours depuis 2016 (durée : 40 mois) –
Financement : 197.820 € – Contact :
nathalie.hinfray@ineris.fr

Mots-clés : produit chimique, perturbateur endocrinien, trouble reproduction, système endocrine, organisme vivant, faune aquatique, espèce humaine, exposition, test, protocole, biomarqueur, vitellogénine, vitellogenèse, œstrogène, androgène, gonade, biosynthèse, stéroïdogénèse, stéroïde, gametogénèse, gène, criblage, modèle biologique, animal transgénique, protéine fluorescente, fluorescence, enzyme, oestradiol, pesticide, azolé, antifongique, propiconazole, technique ELISA

Ces dernières années, la communauté scientifique s'est beaucoup intéressée aux perturbations du système endocrinien des organismes vivants (faune sauvage, animaux d'élevage, espèce humaine), suite à l'exposition à des produits chimiques appelés perturbateurs endocriniens (PE). Chez différentes espèces de poissons, l'exposition à des PE a été associée à des effets néfastes sur la reproduction à la fois au niveau de l'individu mais aussi au niveau de la population. Face aux risques liés à l'exposition aux PE, le développement de tests aptes à rendre compte du potentiel PE des substances et de stratégies d'évaluation des risques PE est devenu un objectif essentiel dans le cadre de la réglementation REACH⁷⁰. Si certains tests *in*

⁷⁰ Règlement européen (No 1907/2006) entré en vigueur en 2007 pour mieux protéger la santé humaine et l'environnement contre les risques liés aux substances chimiques.

vitro et *in vivo* sont validés ou en cours de développement à l'OCDE, il n'en reste pas moins que l'amélioration des tests qui s'inscrivent dans une stratégie d'évaluation des dangers des PE efficace reste un défi majeur.

Les tests de criblage

Au niveau réglementaire, le criblage du potentiel PE des substances chimiques repose à la fois sur des tests *in vitro* et *in vivo*. Pour caractériser le potentiel PE des substances, les tests *in vivo* les plus utilisés actuellement sont :

- Le test 21 jours chez les poissons adultes⁷¹ ;
- Le test de développement sexuel chez le poisson juvénile⁷².

Dans ces tests, les oestrogènes sont détectés grâce à la mesure d'un biomarqueur, à savoir l'induction de la vitellogénine chez le poisson mâle ; et les anti-oestrogènes grâce à l'inhibition de ce même gène chez les femelles. En revanche, à l'heure actuelle, les perturbations de la voie de synthèse des androgènes et de la voie de synthèse des oestrogènes (inhibiteurs d'aromatase) ne sont prises en compte que de manière indirecte sans que les expressions/activités des enzymes impliquées ne soient mesurées.

Les modèles de poissons transgéniques

Ces dernières années, différents modèles de poissons transgéniques ont été développés. Ces animaux constituent des modèles biologiques pertinents, utiles et pratiques pour le criblage des activités PE des substances chimiques seules ou en mélanges, permettant de réduire le

⁷¹ OCDE TG 230 : essai de 21 jours sur les poissons (dépistage à court terme de l'activité oestrogénique, et androgénique et de l'inhibition de l'aromatase).
https://www.oecd-ilibrary.org/fr/environnement/essai-n-230-essai-de-21-jours-sur-les-poissons_9789264076235-fr

⁷² OCDE TG 234 : essai de développement sexuel des poissons.
https://www.oecd-ilibrary.org/fr/environnement/essai-n-234-essai-de-developpement-sexuel-des-poissons_9789264122376-fr

nombre d'animaux et le coût des analyses. Toutefois, peu de ces modèles biologiques sont reconnus au niveau réglementaire.

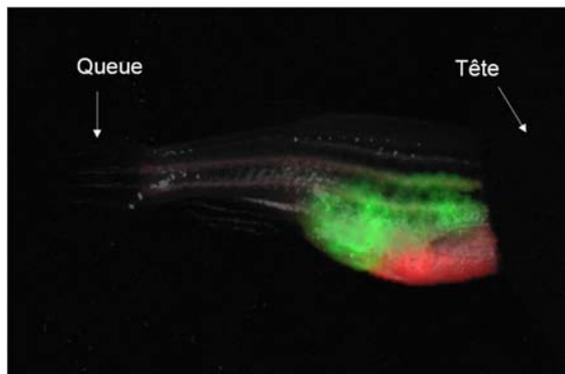


Illustration 14 : Fluorescence *in vivo* de la GFP (vert) dans les ovaires d'une femelle de la lignée *cyp19a1a-GFP* (Auteurs : Julie De Oliveira et nathalie Hinfray)

Le projet de recherche : AIDEZ

Ce projet s'inscrit dans une optique d'amélioration des tests réglementaires de criblage des PE (OCDE TG 229 et 230) à l'aide de modèles de poissons zèbres transgéniques originaux : *cyp19a1a-GFP* et *cyp11c1-GFP*. Dans ces lignées, une analyse quantitative de la fluorescence de la protéine rapportrice (GFP⁷³) via l'imagerie de l'animal, si possible *in vivo*, permettrait d'apporter une réponse directe quant aux potentielles perturbations des voies de biosynthèse des oestrogènes (inducteur/inhibiteur d'aromatase) et des androgènes 11-oxygénés, ce qui n'est pas envisageable avec les tests actuels.

Méthodologie

Au cours de ce projet, nous proposons de :

- Optimiser l'imagerie de la fluorescence dans les lignées de poissons zèbres pour favoriser une acquisition rapide des données et si possible *in vivo*. De plus, la pigmentation des poissons étant un frein aux mesures de fluorescence *in vivo*, les lignées transgéniques seront croisées avec une lignée mutante (casper) qui présente une absence de la pigmentation de la

peau. Ces poissons permettraient d'envisager un suivi *in vivo* de la fluorescence de la GFP au cours du temps et une visualisation des effets PE dès leur apparition et donc, une diminution de la durée du test réglementaire de détection du potentiel PE des substances.

- Étudier les effets de molécules modèles (un oestrogène de référence : l'oestradiol et un inhibiteur de la stéroïdogénèse : le prochloraz) afin de valider l'utilisation de ces lignées transgéniques pour l'étude des PE.
- Étudier les effets de substances d'intérêt environnemental pour lesquelles les dangers et les risques vis-à-vis du caractère PE sont encore peu caractérisés.

Les expositions seront réalisées en continu et par voie aqueuse pendant 21 jours. À la fin de celles-ci, les substances d'intérêt seront quantifiées dans l'eau et si possible dans les gonades permettant ainsi de faire le lien entre les concentrations d'exposition, les quantités accumulées et les effets (concentration en vitellogénine, reproduction), pour générer des données utiles dans le contexte réglementaire.

Résultats préliminaires

Les travaux réalisés jusqu'à maintenant ont permis de :

- Montrer que les paramètres physiologiques (expression de gènes, capacités de ponte, survie de la descendance) et comportementaux sont similaires dans les différentes lignées ;
- Mettre au point un protocole de mesure de la fluorescence *in vivo* dans les lignées *cyp19a1a-GFP* casper ou non, les casper permettant une meilleure détection de la fluorescence de la GFP ;
- Démontrer l'intérêt des lignées transgéniques pour l'étude des PE, et notamment la lignée *cyp19a1a-GFP* casper ou non. En effet, les expositions aux substances modèles nous ont permis de réaliser un suivi *in vivo* de la

⁷³ De l'anglais "green fluorescent protein", protéine fluorescente verte issue de la méduse *Aequorea victoria*.

fluorescence en fonction du temps et des concentrations d'exposition, sans induire de mortalité et sans perturber les capacités de reproduction des individus. De plus, les résultats obtenus sur les concentrations en vitellogénine et sur les capacités de reproduction des individus sont cohérents avec ce qui est rapporté dans la littérature pour les lignées sauvages.

Nous poursuivons ce travail en étudiant les effets PE de substances pour lesquelles les dangers et les risques sont encore peu caractérisés.

Publications :

Hinfray N., Sohm F., Caulier M., Chadili E., Piccini B., Torchy C., Porcher JM., Guiguen Y., Brion F. 2018. *Dynamic and differential expression of the gonadal aromatase during the process of sexual differentiation in a novel transgenic cyp19a1a-eGFP zebrafish line*. General and Comparative Endocrinology, 261, 179-189.

Validation d'un modèle amphibien pour l'étude des perturbateurs endocriniens

Validation d'un modèle amphibien pour l'étude des effets métaboliques transgénérationnels des perturbateurs endocriniens

Stéphane REYNAUD, Laboratoire d'Écologie alpine, UMR CNRS 5553, Grenoble

Jean-Baptiste Fini, UMR 7221 CNRS/USM 501, Paris

Projet de recherche en cours depuis 2019 (durée : 24 mois) - Financement : 115.690€ – Contact : stephane.reynaud@univ-grenoble-alpes.fr

Mots-clés : métabolisme, diabète, maladie métabolique, modèle, cerveau, foie, hydrocarbure aromatique, perturbateurs endocriniens, benzo[a]pyrène, triclosan, mélanges, faible dose, amphibien, transcriptome, modèle animal, mécanisme d'action, biomarqueur, écosystème aquatique, épigénétique

Selon des études épidémiologiques récentes, les perturbateurs endocriniens (PE) sont probablement impliqués dans une part importante de maladies métaboliques (ex. diabète, obésité, pancréatite). Parmi les substances incriminées, le benzo(a)pyrène (BaP)⁷⁴ et le triclosan (TCS)⁷⁵ sont capables de perturber les métabolismes lipidique⁷⁶ et glucidiques d'un amphibien (*Xénope tropicalis*), entraînant une résistance à l'insuline et des dommages au foie. Ces résultats, bien que démontrant le même type de désordre métabolique que ceux suspectés dans

⁷⁴ Le BaP appartient à la famille des hydrocarbures aromatiques polycycliques.

⁷⁵ Le TCS est un antimicrobien (biocide) utilisé dans les produits de consommation courante et d'hygiène (ex. chaussettes anti-odeurs, déodorants, solutions hydro-alcooliques).

⁷⁶ Ensemble des processus par lesquels chaque tissu synthétise et dégrade ses lipides (graisses) structurels et fonctionnels.

les études épidémiologiques ont été observés avec des concentrations relativement élevées de polluants.



Illustration 15 : *Xénope tropicalis* adulte (Auteur : Muriel Raveton)

Un modèle amphibien

Pour caractériser les effets des PE à des concentrations plus réalistes (compatibles avec celles présentes dans les écosystèmes, notamment l'eau), des *Xénope tropicalis* ont été exposés, durant tout leur cycle de développement (de l'œuf à l'âge adulte) à des concentrations faibles⁷⁷ de deux polluants (BaP et TCS), seuls ou en mélange. Les résultats de cette étude démontrent que :

- Ces PE induisent, à faible dose, les mêmes désordres métaboliques que ceux observés à court terme avec de plus fortes concentrations ;
- Les voies métaboliques activées sont identiques : d'où l'identification de biomarqueurs hépatiques spécifiques de l'exposition à ces perturbateurs métaboliques.

Parmi les questions qui restent à élucider, figurent celle du contrôle du métabolisme par le système nerveux central⁷⁸ (mécanismes) et

⁷⁷ 0,05 microgramme/litre ($\mu\text{g/L}$).

⁷⁸ En modulant directement le métabolisme de certains organes (comme le foie) et en régulant indirectement la sécrétion de différentes hormones.

celle des conséquences indirectes d'une exposition aux PE, notamment les effets multi-ou transgénérationnels.

Le projet de recherche : Candyfrog

Très peu d'études ont permis de mettre en évidence des biomarqueurs pouvant prédire les effets métaboliques transgénérationnels des PE. Contrairement au modèle mammifère (rongeur), l'étude de la génération F2 suffit chez les amphibiens⁷⁹ pour appréhender les processus épigénétiques.

Méthodologie

Pour valider ce modèle, des amphibiens ont déjà été exposés du stade œuf au stade adulte mature (10 mois) à des concentrations environnementales de BaP et TCS, seuls ou en mélange. Ces *Xénope*s ont déjà été accouplés ainsi que leurs petits non exposés.

Par une approche dite « *Next-generation sequencing* » (NGS)⁸⁰, les échantillons de cerveau de la génération F0 seront étudiés : analyse du transcriptome⁸¹ cérébral. De plus, afin de déterminer si les biomarqueurs hépatiques, mis en évidence sur cette même génération parentale, permettent de prédire des désordres métaboliques transgénérationnels, les fonctions métaboliques seront évaluées sur la génération F2 (mois 6-12) au travers de tests de tolérance au glucose et de résistance à l'insuline, de coupes histologiques du foie et du pancréas.

Approches transcriptomiques⁸² et épigénomiques⁸³ viendront compléter cette

⁷⁹ « F0 » désigne la génération exposée ; « F1 » la progéniture non-exposée et « F2 » l'ensemble des petits de la deuxième génération.

⁸⁰ Séquençage haut débit, méthode récente qui permet de produire des millions de séquences en un « run » et à faible coût.

⁸¹ Ensemble des ARN issus de la transcription du génome.

⁸² Par « *mRNA sequencing* » sur 4 mâles et 4 femelles pris au hasard pour chaque exposition parentale.

démarche, avec l'analyse des cerveaux et foies de la génération F2 (mois 12-18) pour caractériser certains biomarqueurs déjà mis en évidence chez les parents exposés, les effets transgénérationnels de l'exposition parentale et les gènes potentiellement régulés par ces modifications.

Effets d'un substitut potentiel du BPA, le BADGE

Effets d'un substitut potentiel du BPA, le BADGE, sur le développement des cellules germinales fœtales chez la souris et l'homme

Virginie ROUILLER-FABRE, Université Paris Diderot, Paris 7, Inserm U967/CEA, LDG/IRCM, Fontenay-aux-Roses

Fernando Rodrigues-Lima, Université Paris Diderot, Unité BFA, CNRS, EAC 4413, Paris / **Alexandra Benachi**, Hôpital Antoine Bécclère, Médecine de la Reproduction, Clamart

Étude en cours depuis 2015 (durée : 36 mois) – Financement ADEME : 150.800 € – Contact : virginie.rouiller-fabre@cea.fr

Mots-clés : produit chimique, perturbateur endocrinien, bisphénol A, substitut, produit substitution, plastifiant, monomère, résine époxy, conserve, toxicité, reproduction, incertitude, fœtus, grossesse, gonade, testicule, testostérone, ovaire, gène, œstrogène, androgène, cellule germinale, xénogreffe

Au cours des dernières décennies, plusieurs pathologies liées à la fonction de reproduction ont vu leur incidence augmentée dans l'espèce humaine. Une fenêtre d'exposition particulièrement sensible aux perturbateurs endocriniens se situe au cours de la grossesse et notamment lors du développement des gonades⁸⁴ fœtales. Parmi les substances chimiques susceptibles d'altérer les gonades mâles et femelles, figurent les plastifiants : notamment, le bisphénol A (BPA) « *préssumé toxique pour la reproduction* » (catégorie 1B). D'où l'interdiction de mise sur le marché de tout conditionnement à usage alimentaire contenant du BPA⁸⁵.

Cependant, la définition des substances appelées à remplacer l'usage du BPA demeure extrêmement imprécise. Ceci est dû, en partie,

⁸³ Les profils de méthylation des ADN seront évalués par immunoprécipitation de l'ADN méthylé couplé au séquençage massif (MeDIP-seq).

⁸⁴ Organes reproducteurs : il s'agit des testicules chez le mâle et des ovaires chez la femelle.

⁸⁵ Loi du 14 décembre 2012, mise en vigueur au 1^{er} janvier 2015.

au fait que l'innocuité de celles-ci est toujours incertaine, car ces molécules ont peu ou pas été documentées. Parmi la famille des bisphénols, le BADGE (bisphénol A diglycidyl éther) a été proposé comme potentiel substitut.

Le BADGE

Le BADGE présente une structure chimique proche du BPA. Malgré son utilisation dans les résines époxy, dans les conserves ou les canettes, il n'existe pas d'étude qui ait mesuré spécifiquement les effets de ce composé chimique sur les gonades fœtales.

Du fait de sa proximité de structure ou de son potentiel oestrogénique, le BADGE pourrait avoir des effets semblables à ceux du BPA. Il est donc important de comparer ses effets à ceux connus du BPA, en particulier dans les gonades humaines. En effet, des études précédentes ont déjà montré que d'autres composés de la famille des bisphénols, comme le bisphénol S (BPS) et le bisphénol F (BPF) qui commencent à être utilisés pour remplacer le BPA dans certains matériaux, présentent *in vitro*, comme le BPA, des effets antiandrogéniques chez le mâle⁸⁶.

En ce qui concerne le BADGE, des résultats préliminaires obtenus en culture organotypique suggèrent, d'ores et déjà, que cette substance a un effet très toxique sur les cellules germinales femelles murines, beaucoup plus net que celui du BPA.

Le projet de recherche : BADGERM

L'objectif général du projet est de fournir des informations expérimentales sur l'innocuité ou la toxicité du BADGE sur les cellules germinales (CG) mâles et femelles, murines et humaines.

Jusqu'à présent, nous avons utilisé un système de culture organotypique pour évaluer les

effets des perturbateurs endocriniens sur le développement des gonades de différentes espèces. Ce système, très performant pour les études à court terme, ne permet pas des études à long terme (plus de cinq jours). Le présent projet de recherche vise à étudier les effets du BADGE sur une période plus longue. Chez la souris, nous réalisons une exposition des femelles gestantes par l'eau de boisson. Chez l'humain, nous utilisons le modèle de xénogreffe⁸⁷, qui consiste à greffer des morceaux de gonades fœtales humaines sur des souris « nude » exposées au BADGE par l'eau de boisson.

Méthodologie

Le projet BADGERM s'articule autour de deux grands axes.

1. L'exposition *in vivo* de souris gestantes. À différentes étapes de la gestation, les effets toxiques du BADGE sont évalués sur :
 - a. Le nombre et l'apoptose des CG (mâle et femelle); ainsi que sur leur niveau de différenciation.
 - b. La progression méiotique (femelle) ; l'entrée en quiescence (mâle)
 - c. La méthylation de l'ADN (mâle).
2. L'étude des effets à long terme du BADGE sur les gonades fœtales humaines, issues d'interruptions volontaires de grossesse (IVG). Pour cela, le modèle utilisé *in vivo* est celui de gonades fœtales humaines greffées dans le muscle du dos de souris athymiques.

Résultats préliminaires

Nos premiers résultats indiquent que le BADGE affecte les cellules germinales femelles et mâles murines en réduisant leur nombre pendant la vie fœtale pouvant entraîner une hypofertilité à l'âge adulte. De plus il

⁸⁶ De manière similaire au BPA, une concentration de 10nM de BPS et de BPF suffit pour réduire la sécrétion de testostérone pour le testicule fœtal humain.

⁸⁷ Transplantation d'un organe, d'un tissu ou de cellules d'un donneur à un receveur d'une espèce biologique différente.

perturbe leur différenciation. Chez la femelle il se traduit par un défaut d'initiation de la méiose. Chez le mâle l'exposition fœtale au BADGE altère le programme de différenciation. Désormais nous nous focalisons sur les mécanismes d'action impliqués.



Substitution du bisphénol A

Rapport d'étude

Mars 2013 Édition scientifique



Illustration 16 : Substitution du bisphénol A (Anses Éditions, mars 2013)

L'impact d'une exposition fœtale à un substituant potentiel du BPA, le BPAF

Caractérisation des effets d'une exposition in utero à un analogue du BPA, le BPAF, sur le développement des cellules germinales femelles chez l'Homme et la souris

Gabriel LIVERA, Laboratoire de développement des gonades, UMR U1274, Cellules souches, stabilité génétique et radiations, Fontenay-aux-Roses

Alexandra Benacchi, Hôpital Antoine Bécclère, Médecine de la Reproduction, Clamart

Étude en cours depuis 2017 (durée : 40 mois) –

Financement : 200 k€ - Contact :

gabriel.livera@cea.fr

Mots-clés : exposition maternelle, exposition professionnelle, composé chimique, perturbateur endocrinien, bisphénol A, substitut, polymère fluor, ester polymère, carbonate polymère, toxicité, toxicologie, cellule germinale, ovaire, méiose, différenciation, division cellulaire, ovocyte, *in utero*, prophase, aneuploïdie, trouble reproduction, gamète, puberté

Selon l'OMS, la santé reproductive « s'intéresse aux mécanismes de la procréation et au fonctionnement de l'appareil reproducteur à tous les stades de la vie »⁸⁸. Au cours des dernières décennies, une hausse significative de pathologies de la reproduction féminine a été rapportée, dont l'origine commune semble être l'exposition à de nombreux polluants présents dans l'environnement. Parmi les causes principales incriminées, figure une anomalie chromosomique : l'aneuploïdie⁸⁹ embryonnaire, qui touche 40% des embryons.

⁸⁸

https://www.who.int/topics/reproductive_health/fr/

⁸⁹ L'aneuploïdie caractérise une cellule qui ne possède pas le nombre normal de chromosomes.

L'aneuploïdie embryonnaire

Il est désormais admis que plus de 95% des aneuploïdies embryonnaires sont d'origine ovocytaire et sont dues à des erreurs de ségrégation chromosomique au cours des divisions méiotiques femelles. La méiose est un processus de double division cellulaire qui permet la formation de quatre cellules sexuelles (ou gamètes) à partir d'une seule cellule mère diploïde⁹⁰. Cette différenciation joue un rôle clé dans l'évolution des espèces et leur diversité génétique. Une des particularités de la méiose femelle est le fait qu'un ovocyte ne rentre en métaphase méiotique (division) qu'à partir de la puberté alors qu'il a initié la prophase de première division de méiose (prophase 1) pendant la vie fœtale.

La vie fœtale est donc une période critique où l'exposition des ovocytes aux facteurs environnementaux est susceptible d'altérer la méiose et, donc, la qualité de la gamète femelle adulte.

Le BPAF, substituant potentiel au BPA

Le BPAF est un bisphénol fluoré, principalement utilisé dans la synthèse de matériaux présentant des propriétés « élastiques » : les fluoroélastomères. Il peut aussi être utilisé dans la fabrication de certains polymères spécifiques (ex. polyesters, polycarbonates) pour augmenter leur résistance à la chaleur. Même si son utilisation est pour le moment, restreinte à certains matériaux utilisés en électronique, robotique et en aéronautique, sa présence dans notre environnement n'est pas négligeable puisqu'il est régulièrement détecté dans l'eau, les poussières domestiques, les sédiments et les boues des stations d'épuration.

Peu d'études ont été réalisées pour évaluer la toxicité du BPAF. Mais, son analogie structurale au BPA, sa persistance dans

l'environnement et sa faible biodégradation justifient l'importance d'une étude sur la toxicité éventuelle du BPAF sur les cellules germinales femelles, déjà connues pour être extrêmement sensibles au BPA.

Le projet de recherche : BODY

Cette étude entre dans le cadre d'une évaluation des risques pour des populations vulnérables ou sensibles (exposition *in utero*) et pour des populations exposées (travailleurs) à des agents chimiques émergents.

Son objectif est de caractériser, chez la souris et chez l'Homme, les effets d'une exposition des cellules germinales fœtales femelles sur leur différenciation et d'établir un lien entre les défauts de différenciation potentiellement observés, des altérations probables de prophase 1 de méiose pendant la vie fœtale et des altérations de ploïdie ovocytaire à la reprise de la méiose à l'âge adulte.

Méthodologie

Le projet s'articule autour de trois modèles d'exposition au BPAF :

- Un modèle d'exposition *in utero* chez la souris ;
- Un modèle d'exposition *in vivo* d'ovaire fœtaux humains xéno greffés chez la souris ;
- Un modèle d'exposition *in vitro* de cellules germinales dérivées de cellules souches pluripotentes induites humaines (iPS).

Ces modèles complémentaires, permet d'évaluer à long terme (modèle souris) et à moyen terme (modèle de xéno greffe d'ovaire humain) les effets du BPAF sur la fertilité et la qualité ovocytaire. Le modèle d'exposition *in vitro* de cellules germinales apporte, quant-à-lui, des précisions les mécanismes génétiques

⁹⁰ À l'issue de la méiose, chaque cellule diploïde (présentant deux exemplaires de chaque chromosome) forme ainsi quatre cellules haploïdes (un seul exemplaire de chaque chromosome).

et épigénétiques mis en jeu après exposition au BPAF.

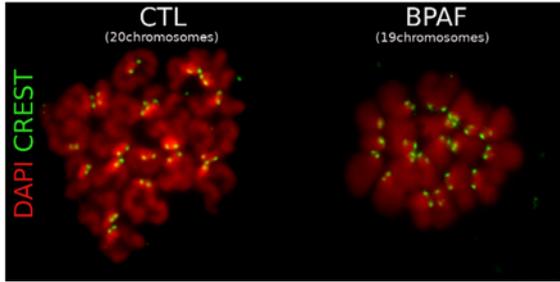


Illustration 17 : Contenu chromosomique d’ovocytes (stade métaphase II) de souris adultes exposées *in utero* au BPAF (droite) et au solvant (condition contrôle, à gauche) . Les ovocytes exposés au BPAF ont un chromosome en moins que les souris-contrôles, résultant d’une mauvaise ségrégation des chromosomes à la première division de méiose. Les chromosomes sont marqués au Dapi (rouge) et les chromatides sont quantifiées grâce à la présence du marqueur centromérique CREST (vert).

Résultats préliminaires

Chez la souris femelle, l’exposition *in utero* au BPAF conduit à une baisse de la fertilité des souris à l’âge adulte. Cette baisse de fertilité est corrélée à une baisse du nombre de follicules ovariens et une augmentation du nombre d’ovocytes aneuploïdes après la première division de méiose. Ces altérations adultes semblent découler de problèmes survenant au moment de la prophase I de méiose pendant la vie foétale. En effet, l’exposition au BPAF entraîne un retard d’entrée en prophase I de méiose et des altérations du mécanisme d’appariement et d’échanges d’informations génétiques entre les chromosomes homologues.

L’exposition d’ovaires foetaux humains au BPAF semble occasionner les mêmes effets, puisque nous observons aussi des altérations de prophase I de méiose illustrées notamment par un délai de progression en prophase, I. Ainsi, le BPAF semble induire des effets très

similaires au BPA occasionnant des problèmes de fertilité à l’âge adulte.

L'exposition humaine au bisphénol

S

Contribution à l'évaluation de l'exposition humaine au Bisphénol S : approche physiologique et comparative

Véronique GAYRARD, UMR 1331 Inra Toxalim, École nationale vétérinaire de Toulouse

Nicole Picard-Hagen, UMR1331 Toxalim, ENVT / **Marlene Lacroix**, UMR 1436, Innovations thérapeutiques et résistances, Inra, ENVT, Toulouse / **Michèle Bouchard**, Unité d'analyse de la plateforme Xénobiotiques et nanoparticules du DSEST, Université de Montréal, Canada / **Roger Léandri**, équipe EA 3694, Groupe de recherche en Fertilité humaine, centre d'AMP, Université de Toulouse 3

*Étude en cours depuis 2017 (durée : 40 mois) –
Financement : 199.973 € – Contact :
v.gaynard@envt.fr*

Mots-clés : exposition, perturbateur endocrinien, bisphénol S, produit substitution, produit consommation, mode exposition, absorption cutanée, voie cutanée, voie orale, ingestion, métabolite, monomère, polycarbonate, résine époxy, encre, pharmacocinétique, toxicologie, métabolisme, sang, clairance, prélèvement urine, évaluation risque, modèle animal, modèle physiologique

Suite à l'interdiction du BPA dans les contenants alimentaires⁹¹ en France, les industriels ont anticipé la mise en application de la loi⁹² et progressivement remplacé le BPA par des substances analogues : principalement, le bisphénol S dont l'utilisation n'est pas réglementée. Le BPS est ainsi utilisé comme monomère de plastiques⁹³ et comme révélateur de l'encre des papiers thermiques (ex. tickets de caisse).

La présence du BPS dans l'environnement

⁹¹ Loi 2012-1442 du 24 décembre 2012.

⁹² Janvier 2015.

⁹³ Plastiques de type polycarbonate et résines époxydes.

Dans différents pays, le BPS a été retrouvé dans les aliments en conserve, les papiers thermiques et les produits de soins. Sa présence a été mise en évidence, par exemple, dans l'air intérieur : notamment dans des échantillons de poussières prélevés dans l'environnement domestique au Japon, aux USA, en Corée et en Chine⁹⁴. La présence du BPS peut ainsi être considérée comme ubiquitaire dans l'environnement et l'homme pourrait être exposé par voies alimentaire, cutanée et/ou par inhalation. De plus, l'absence de biodégradation du BPS dans le milieu aquatique⁹⁵ suggère que l'accumulation potentielle du BPS dans l'environnement pourrait accroître la prévalence et le niveau des expositions humaines.

Les effets comparables du BPA et du BPS

En raison du potentiel perturbateur endocrinien du BPS comparable à celui du BPA, des auteurs alertent la communauté scientifique sur le fait que le remplacement du BPA par le BPS pourrait s'ajouter aux cas des « substitutions regrettables ». L'exposition au BPS comme au BPA peut inhiber, par exemple, la production de testostérone comme cela a été montré à partir de modèles *in vitro* et *ex vivo* et *in vivo* chez les rongeurs. Elle peut aussi induire l'accumulation de lipides et modifier (influencer) l'expression des gènes de l'adipogenèse⁹⁶.

En ce qui concerne le BPS, l'exposition non alimentaire *via* les papiers thermiques pourrait constituer une source potentielle importante d'exposition humaine au BPS. En témoignent, suite à la manipulation de papiers thermiques, l'augmentation des concentrations urinaires en BPS total⁹⁷ et de la fréquence de détection du BPS dans le sérum.

⁹⁴ 156 échantillons de poussière intérieure prélevés dans ces quatre pays, avec des concentrations qui varient entre 0,00083 et 26,6 µg/g.

⁹⁵ Contrairement au BPA et BPF.

⁹⁶ Processus de différenciation cellulaire dans lequel des pré-adipocytes deviennent des adipocytes.

⁹⁷ BPS et ses métabolites conjugués.

Toutefois, les données pharmacocinétiques (PK) du BPS sont limitées et suggèrent que le BPS pourrait persister plus longtemps et à de plus fortes concentrations dans l'organisme que le BPA.

Le projet de recherche : PhenoMenExpo

Les données pharmacocinétiques actuelles (PK) chez l'homme ne permettent de prédire l'exposition interne au BPS à partir des mesures de concentrations urinaires en BPS total. À partir de données pharmacocinétiques obtenues chez l'animal et l'homme, l'objectif du projet consiste à **construire un modèle physiologique** pour prédire l'exposition interne au BPS pour les principales voies d'exposition, c'est-à-dire les voies orale et cutanée.

L'originalité de ce projet réside dans la complémentarité des modèles (animal, homme) et des approches modélisatrices, mises en œuvre par les partenaires.

Méthodologie

Un modèle pharmacocinétique (PK) compartimental de la disposition du BPS sera tout d'abord développé à partir d'explorations PK chez le porcelet, espèce animale pertinente pour l'homme en termes d'absorption transcutanée, buccale et digestive. Ce modèle sera ensuite calibré pour l'homme à l'aide des paramètres PK obtenus suite à l'administration extravasculaire (orale et cutanée) de BPS chez l'homme. Les paramètres manquants, dont la clairance⁹⁸ et le volume de distribution du BPS, seront évalués par une approche comparative des valeurs obtenues chez le rat, le porcelet et la brebis. Déduts de cette étude, les paramètres PK humains du BPS seront à la base du développement d'un modèle physiologique.

⁹⁸ Capacité de l'organisme ou d'un organe à éliminer une substance après qu'elle ait atteint la circulation générale. La clairance a la dimension d'un débit et s'exprime en volume de plasma épuré d'une substance, ici le BPS, par unité de temps.

Ce modèle permettra d'identifier les processus physiologiques déterminant les concentrations plasmatiques en BPS chez l'homme, de simuler ces concentrations pour différents scénarios d'exposition et de rédire l'impact de modifications biologiques sur l'exposition interne. La capacité de ce modèle à prédire différents scénarios sera évaluée au travers de l'analyse des données urinaires et plasmatiques d'exposition au BPS d'une population d'environ 400 femmes⁹⁹ en procréation médicalement assistée. Ces données d'exposition humaine sont critiques pour le développement de modèles prédictifs de l'exposition du fœtus humain au BPS d'autant plus que le projet BPSfetalExpo¹⁰⁰ montre, à partir de données obtenues chez la brebis, que le BPS s'accumule dans le compartiment fœtal.

⁹⁹ Suivies dans le cadre d'un PHRC national, intitulé « Exposition au bisphénol A, fonction ovarienne et résultats en assistance médicale à la procréation » (FIVPHENOL, 2014-2017).

¹⁰⁰ BPSfetalExpo, Développement d'une approche intégrative pour évaluer l'exposition interne fœtale humaine au bisphénol S, projet financé par le PNR EST (2015-112) et piloté par Nicole Picard-Hagen, Toxalim, ENVT, Toulouse.

Exposition prénatale aux phtalates et neuro-développement du jeune enfant

Exposition aux phtalates pendant la grossesse et neurodéveloppement de l'enfant dans les premières années de vie

Claire PHILIPPAT, Institut pour l'avancée des biosciences, Inserm U1209, Site santé

Partenaires : **Patrice Faure et Christelle Corne**, Département de Biochimie, Toxicologie et Pharmacologie, CHU Grenoble – **Olivier Pascalis**, Université de Grenoble, Laboratoire de Psychologie et NeuroCognition - **David Meary**, CNRS UMR5105

Étude en cours depuis 2016 (durée : 40 mois) –
Financement : 199.998 € – Contact :
claire.philippat@inserm.fr

Mots-clés : trouble du développement, développement neurophysiologique, enfant, exposition prénatale, exposition maternelle, phtalates, bisphénols, parabènes, triclosan, composés chimiques, produits chimiques, produit consommation courante, perturbateurs endocriniens, facteur risque, grossesse, fœtus, neurotoxicité, cohorte, épidémiologie, thyroïde, hormone thyroïdienne, prélèvement sang, urine, biomarqueur

Les troubles neuro-développementaux (TND) de l'enfant peuvent affecter différents aspects du développement comme l'acquisition du langage ou la motricité, les apprentissages scolaires, la mémoire, le comportement mais aussi les interactions sociales. En France, ces troubles qui apparaissent le plus souvent dès la petite enfance, touchent environ 12% des enfants. La prévalence de certains troubles spécifiques a beaucoup augmenté ces dernières années. C'est le cas des troubles du spectre autistique (TSA) pour lesquels les données des deux registres des Handicaps de l'Enfant ont mis en évidence une augmentation de la prévalence chez l'enfant entre 1997 et 2003 en

France¹⁰¹. Ces données étaient en accord avec l'augmentation de la prévalence des TSA observée aux États-Unis¹⁰². Or, les nouveaux critères diagnostiques, la meilleure sensibilisation des professionnels de santé et l'importance du dépistage précoce ne peuvent expliquer, à eux seuls, l'augmentation de cette prévalence.



Illustration 18 : Biberon en plastique (Crédits : iStock by Getty Images)

Il est désormais bien établi que les troubles du neurodéveloppement sont d'origine multifactorielle, provoquée par une combinaison de facteurs génétiques, épigénétiques et environnementaux. Parmi les facteurs environnementaux, il a été suggéré que le stress maternel, l'infection durant la grossesse (ex. grippe, VIH) et l'exposition à certaines substances chimiques pendant la vie fœtale pourraient être impliqués. Le plomb, le mercure et les PCB ont ainsi une neurotoxicité connue et leur utilisation est désormais restreinte ou interdite en Europe. Demeurent toutefois des interrogations associées aux substances « émergentes » ou « polluants

¹⁰¹ Van Bakel MM, et al. *Low but increasing prevalence of autism spectrum disorders in a French area from register-based data.* J Autism Dev Disord 2015;45(10):3255-61.

¹⁰² Centers for Disease Control and Prevention, *Prevalence of autism spectrum disorders, Autism and Developmental Disabilities Monitoring Network, 14 sites, United States, 2008.* MMWR Surveill Summ 2012;61(3):1-19.

prioritaires » comme les pesticides, les pyréthrinoides, les bisphénols et les phtalates.

Les phtalates

Les phtalates sont des composés chimiques, largement utilisés dans une vaste gamme de produits de consommation : présents dans les cosmétiques (ex. parfums, gels, vernis à ongles), les dispositifs médicaux, dans la quasi-totalité des produits en polychlorure de vinyle (PVC) et dans les emballages alimentaires. Certains sont des perturbateurs endocriniens, ils peuvent migrer, par exemple, des emballages au contact de liquides ou d'aliments gras, dans l'air ambiant (ex. poussières), les sédiments, les sols et eaux de surface. C'est pourquoi plusieurs directives européennes règlementent l'utilisation de certains phtalates dans les produits de consommation courante, notamment dans les jouets et articles de puériculture fabriqués en PVC souple¹⁰³ et les emballages alimentaires¹⁰⁴. Mais ces directives sont sectorielles ; elles ne comprennent pas toutes les sources d'exposition et peu de données sont disponibles concernant l'effet sanitaire de leurs substituts.

L'exposition prénatale

Chez les rongeurs, l'exposition à certains phtalates a été associée à des déficiences dans l'apprentissage spatial, à des troubles de la mémoire ainsi qu'à une diminution de la fréquence des toilettes. Mais, il est difficile d'extrapoler ces données à l'homme, dont les comportements sociaux sont beaucoup plus complexes. Afin d'éviter l'extrapolation inter-espèces, quelques études épidémiologiques ont été effectuées pour évaluer les associations entre l'exposition prénatale aux phtalates et le développement neurophysiologique de l'enfant.

Certaines, basées sur les échelles de Bayley¹⁰⁵, suggèrent chez les jeunes enfants, une diminution de certains scores liés au développement mental et psychomoteur en association avec une exposition aux phtalates, principalement aux phtalates de faible masse moléculaire (LMW). D'autres suggèrent, chez les enfants plus âgés (7 ans), un effet dépendant du sexe par ex. un quotient intellectuel inférieur associé à l'exposition aux métabolites de phtalates MBP¹⁰⁶ et au MiBP¹⁰⁷ chez les filles et MiBP chez les garçons. La plupart de ces études reposent sur des populations américaines ; leurs résultats sont discutables – l'estimation de l'exposition étant limitée à la mesure de biomarqueurs dans un petit nombre d'échantillons d'urine maternelle (trois au maximum). Or, en raison de la faible persistance de ces composés chimiques dans l'organisme, les concentrations urinaires varient dans le temps ; l'estimation de l'effet peut être biaisé de 40 à 80%, par rapport à l'effet réel, selon le phtalate considéré. Grâce à une cohorte nouvellement constituée pour laquelle nous disposons d'échantillons d'urine répétitifs, le projet CNAP dépasse cette limite.

Le projet de recherche : CNAP

Axé sur les phtalates, le projet CNAP se concentre sur le neuro-développement des jeunes enfants : notamment, la question de la fenêtre d'exposition précoce (autour de la grossesse). Puis, dans le but d'améliorer la compréhension des mécanismes d'action par lesquels les phtalates peuvent affecter la santé des femmes enceintes et celle de leurs enfants, les niveaux d'hormones thyroïdiennes sont étudiés

Le projet vise à :

¹⁰⁵ Échelles qui évaluent le développement de certaines fonctions chez les jeunes enfants, de 2 mois à 2 ans et demi (définies par la psychologue américaine Nancy Bayley).

¹⁰⁶ Phtalate de monobutyle.

¹⁰⁷ Phtalate de mono-isobutyle.

¹⁰³ Directive européenne 2005/84/CE.

¹⁰⁴ Directive européenne 2007/19/CE.

1. Étudier les effets potentiels de l'exposition prénatale aux phtalates et certains de leurs substituts sur le neuro-développement de jeunes enfants âgés entre 0 et 2 ans (développement moteur, socio-émotionnel et cognitif) ;
2. Étudier le rôle de voies biologiques particulières, comme la perturbation de la fonction thyroïdienne maternelle et du nouveau-né, dans les effets de cette exposition¹⁰⁸.

Méthodologie

La cohorte mère-enfant¹⁰⁹ SEPAGES a été constituée ; 484 femmes enceintes ont été recrutées, dans la région grenobloise, entre juillet 2014 et juillet 2017 (âge moyen des femmes, 33 ans). En février 2018, 471 enfants étaient nés : 54% étaient des garçons et 3% pesaient moins de 2,5 kg.

Les biomarqueurs d'exposition aux phtalates ont été dosés dans les urines maternelles et celles de leurs enfants. Pour compléter cette approche, des prélèvements sanguins pendant la grossesse et à la naissance (papier buvard) ont été effectués pour évaluer l'effet éventuel des phtalates sur les hormones thyroïdiennes.

Comme toute étude épidémiologique, basée sur la constitution d'une biobanque, la cohorte SEPAGES ne vise pas à être représentative de la population générale. Mais, si un effet des phtalates peut être observé auprès de cette population de femmes enceintes plutôt instruites, alors il peut suffire à justifier que des mesures de santé publique soient prises pour limiter l'exposition aux phtalates.



Illustration 19 : Jouets et équipements en matière plastique destinés aux enfants de moins de trois ans (Anses Éditions, août 2016)

¹⁰⁸ Une altération du fonctionnement des hormones thyroïdiennes pourrait expliquer l'effet potentiel des phtalates sur le neuro-développement des enfants.

¹⁰⁹ <http://sepages.inserm.fr/fr/accueil/>

Effet des phtalates sur la physiologie des bactéries pathogènes

Impact des perturbateurs endocriniens sur la virulence de *Pseudomonas aeruginosa* et *Legionella pneumophila*, bactéries environnementales pathogènes pour l'homme

Sylvie CHEVALIER, Université de Rouen Normandie, Laboratoire de Microbiologie Signaux et Microenvironnement, LMSM EA4312, Centre de Sécurité Sanitaire de Normandie CCSN, Evreux

Jocelyne Caillon, Université de Nantes, Faculté de Médecine EA3826 / **Jean-Marc Berjeaud**, Université de Poitiers, EBI CNRS UMR 7267 / **Alain Dufour**, Université de Bretagne Sud, Laboratoire de Biotechnologie et Chimie Marines, Lorient

Projet de recherche en cours depuis 2018 (durée : 42 mois) – Financement : 199.878€ – Contact : sylvie.chevalier@univ-rouen.fr

Mots-clés : *Pseudomonas aeruginosa*, *Legionella pneumophila*, bactérie, pathogène, phtalate, perturbateur endocrinien, antibiorésistance, biofilm, *Acanthamoeba castellanii*, *Caenorhabditis elegans*

Les phtalates sont des composés chimiques, couramment utilisés comme plastifiants des matières plastiques (PVC). Ils entrent dans la composition de nombreux produits issus de l'industrie agro-alimentaire, cosmétique et automobile, jouets ou dispositifs médicaux, et sont libérés dans l'environnement alors que certains sont des perturbateurs endocriniens (PE).

Les PE peuvent exacerber les maladies infectieuses, et en augmenter la gravité, mais les mécanismes moléculaires sous-jacents n'ont pas encore été décryptés. Ils pourraient inhiber l'action des macrophages¹¹⁰, affaiblissant ainsi le système immunitaire. Ils pourraient également agir directement sur la

¹¹⁰ Cellules du système immunitaire.

physiologie des bactéries pathogènes, modifiant ainsi leur virulence.

Des bactéries présentes dans l'environnement

Pseudomonas aeruginosa (*Pa*) est une bactérie capable de s'adapter à tous types d'environnements. C'est une bactérie opportuniste, qui peut donc devenir pathogène lorsqu'elle infecte des patients immunodéprimés. Cette faculté est liée à la présence de nombreux systèmes de perception des signaux, les senseurs, qui lui permettent d'engager une réponse moléculaire complexe à l'origine du déclenchement d'infections aiguës ou chroniques. *Pa* peut provoquer en effet chez des individus immunodéprimés des infections difficiles à endiguer du fait de sa capacité à produire des facteurs de virulence ou encore un biofilm¹¹¹ qui va la protéger et d'échapper au système immunitaire de l'hôte.

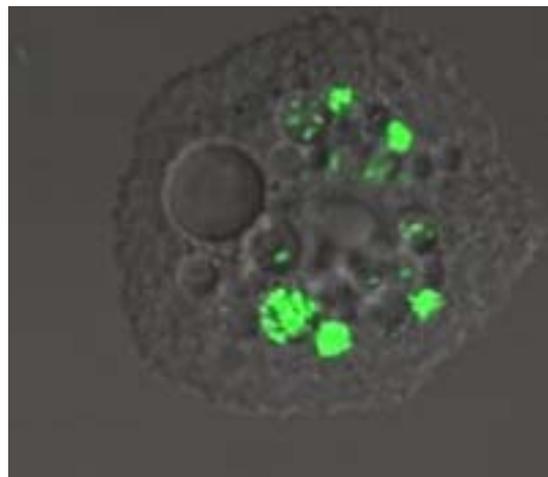


Illustration 20 : Amibe infectée par *Legionella pneumophila* marquée par la protéine fluorescente verte (Auteurs : Drs Alexandre Crépin et Julien Verdon, EBI, UMR 7267, Univ. Poitiers)

À l'origine de la légionellose (maladie du légionnaire), *Legionella pneumophila* (*Lp*) est une bactérie opportuniste qui peut coloniser les amibes et survivre dans les milieux aquatiques (eaux douces) sous forme de biofilm. On la retrouve aussi parfois dans les tours aéro-

¹¹¹ Population organisée de micro-organismes fixée sur une surface vivante ou non.

réfrigérantes et les circuits d'eau chaude. Sa virulence se traduit par son degré d'infectiosité vis-à-vis de ses hôtes (ex. amibes, macrophages), sa résistance aux antibiotiques (ATB) et sa persistance (biofilm).

Une interaction potentielle

Dans les cellules dites « eucaryotes »¹¹², les phtalates sont capables de se fixer et activer les récepteurs nucléaires PPAR *alpha* et *gamma* impliqués dans l'inflammation. Mais, PPAR *gamma* est également le récepteur d'une molécule de communication bactérienne : la 3 oxo-C₁₂ homosérine lactone (3OC₁₂HSL). Cette interaction pourrait donc entraîner l'inactivation du récepteur nucléaire PPAR et augmenter l'inflammation au cours d'une infection :

- Chez *P. aeruginosa*, la 3OC₁₂HSL cible le régulateur de virulence LasR, conduisant à l'activation de tous les systèmes de communication entre ces bactéries (*Quorum sensing*) et à la production synchronisée des facteurs de virulence et/ou d'adhésion ;
- La 3OC₁₂HSL module également la prolifération de *L. pneumophila* et sa capacité à former des biofilms, le récepteur restant à identifier.

Toutes ces données suggèrent que les phtalates pourraient avoir des effets (in)directs sur les infections bactériennes, en modulant la physiologie des bactéries.

Le projet de recherche : IMPERIAL

L'objectif de ce projet de recherche est d'étudier l'impact de PE sur la virulence, la formation de biofilms et l'antibiorésistance de deux bactéries environnementales pathogènes opportunistes de l'homme : *Pseudomonas aeruginosa* (*Pa*) et *Legionella pneumophila* (*Lp*). Ce projet innovant et original vise à

évaluer pour la première fois les effets des PE sur l'antibiorésistance de ces deux bactéries et à décrypter leurs modes d'action.

Les résultats permettront d'évaluer de nouveaux risques sanitaires liés aux PE :

- Sur le développement d'infections aiguës (planctoniques) et chroniques (biofilms) dans le cas de *Pa* ;
- Sur l'invasion, la persistance et le développement d'infections dans le cas de *Lp*.

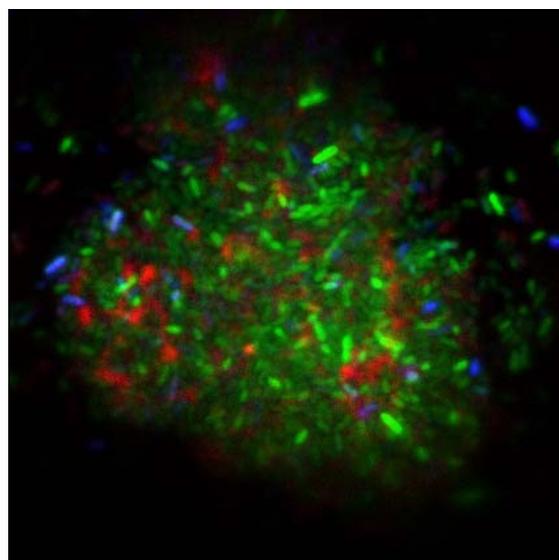


Illustration 21 : Biofilm de *Pseudomonas aeruginosa*. Les bactéries sont marquées en vert, les protéines matricielles en rouge et la matrice polysaccharidique en bleu. (Auteur : Dr Emeline Bouffartigues, LMSM, Univ. Rouen Normandie)

Méthodologie

1. Différents phtalates¹¹³ seront criblés, seuls ou en cocktails, pour leurs effets sur la

¹¹³ Phtalates de haut poids moléculaire (PM) : DEHP (Di(2-ethylhexyl) phtalate), DINP (phtalate de diisononyle) et DIDP (Diisodecyl phtalate) – Phtalates de bas PM : DEP (Phtalate de diéthyle), DMP (diméthyle phtalate) et DBP (phtalate de dibutyle) – Substitués aux phtalates : DINCH (cyclohexane-1,2-dicarboxylate de diisononyle), DEHTP (DEHT, téréphtalate de bis (2-éthylhexyle)), ATBC (acétylcitrate de tributyle) et TXIB (diisobutyrate de 2,2,4-triméthyl-1,3-pentanediol) – Molécules utilisées (pour lesquelles il existe peu d'informations) : DOIP (di-2-éthylhexyle isophtalate) et DIOP (di-isooctylphtalate).

¹¹² Qui présentent un véritable noyau, telles que les cellules humaines.

production de facteurs de virulence par *Pa* et sur l'infectiosité par *Lp* vis-à-vis de son hôte naturel *Acanthamoeba castellanii* (amibe). Les molécules présentant le plus d'impact seront ensuite testées pour leurs effets sur la virulence globale des bactéries sur cultures *in vitro* de cellules pulmonaires et de macrophages et sur l'antibiorésistance.

2. Différents phtalates¹¹⁴ seront testés sur la capacité de *Pa* et *Lp* à former un biofilm en microplaques. L'impact des molécules les plus actives sur le biofilm sera caractérisé par microscopie confocale à balayage laser.
3. Les phtalates, seuls ou en cocktails, ayant un impact significatif sur la virulence et/ou la formation de biofilms seront testés *in vivo* pour leurs effets sur la pathogénicité de *Pa* et *Lp* vis à vis du nématode *Caenorhabditis elegans*. Si ces effets sont confirmés, l'impact des molécules d'intérêt sur la virulence de *Pa* sera analysé *in vivo* sur un modèle murin d'infections chronique et aiguë¹¹⁵.

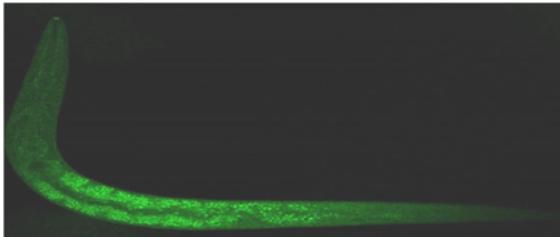


Illustration 22 : *Caenorhabditis elegans* infecté par *Pseudomonas aeruginosa* – PAO 1 contenant un plasmide portant le gène codant la GFP. Les bactéries qui ont envahi les tissus de *C. elegans* sont visibles en vert (Auteur : Pr. Olivier Lesouhaitier, LMSM, Univ. Rouen Normandie)

4. Les mécanismes d'action des phtalates les plus actifs seront décryptés par analyses globales et quantification des molécules du *Quorum sensing* (QS). Les senseurs

¹¹⁴ *Id.*

¹¹⁵ La souris n'étant pas un hôte naturel de *Lp*, sa virulence ne sera testée que sur le modèle *C. elegans*.

bactériens de ces molécules seront recherchés *in silico* et *in vivo*, puis identifiés et caractérisés.

Le potentiel d'émission des retardateurs de flamme

Évaluation des émissions liées à l'exposition aux retardateurs de flamme dans les meubles rembourrés et la literie

Clémence RAWAS, FCBA, Champs-sur-Marne

Valérie Desauziers, IMT Mines Alès, C2MA- Pôle RIME, Pau / **Barbara Le Bot**, Univ Rennes, Inserm, EHESP, Irset, UMR S 1085, Rennes / **Pierre Cardin**, Thor SARL, Salaise sur Sanne

Étude en cours depuis 2017 (durée : 24 mois) –
Financement ADEME : 183.353 € – Contact :
clemence.rawas@fcba.fr

Mots-clés : sécurité incendie, habitat, retardateur flamme, ignifugeant, mobilier, meuble, literie, composé chimique, polyuréthane, composé du phosphore, mousse, revêtement, polyester, perturbateur endocrinien, exposition, enfant, poussière, particule atmosphérique, air intérieur, textile, volatilité, mesure

Chaque année, on estime qu'il se produit plus de 250.000 incendies domestiques en France : soit, un incendie en moyenne toutes les deux minutes, avec pour conséquences 460 décès¹¹⁶. Lorsque que l'incendie est accidentel, le feu part, dans 38% des cas, du salon, de la salle à manger ou du bureau.

Pour réduire le risque d'incendies domestiques, on recourt depuis plusieurs années à l'utilisation de retardateurs de flamme dans les meubles rembourrés domestiques. Ce qui soulève des interrogations : d'une part, sur leur efficacité éventuelle et d'autre part, sur les risques potentiels pour la santé humaine, liés à une exposition de la population à ces composés chimiques.

Les retardateurs de flamme

D'après le rapport d'expertise collective de l'Anses¹¹⁷, les ignifugeants les plus utilisés sont des PBDE (polybromodiphényléthers) : perturbateurs endocriniens, qui ont des effets neurotoxiques mis en évidence chez la femme enceinte. Ils sont, de plus en plus, remplacés par des organophosphates fréquemment rencontrés dans les mousses polyuréthane constituant les meubles rembourrés, mais on connaît mal leur impact sur la santé.



Évaluation des risques liés à l'exposition aux retardateurs de flamme dans les meubles rembourrés

Partie 2 - Evaluation des effets sur la santé et sur l'environnement, et estimation qualitative du rapport bénéfices/risques

Avis de l'Anses
Rapport d'expertise collective

Septembre 2015 – Édition scientifique



Illustration 23 : Évaluation des risques liés à l'exposition aux retardateurs de flamme dans les meubles rembourrés (Anses Éditions, sept. 2015)

Malgré leur interdiction par certaines réglementations internationales et leur utilisation en baisse, les retardateurs de flamme polybromés peuvent encore être retrouvés dans les matériaux ignifugés. Ces composés sont lipophiles et bioaccumulables ; à long terme, ils ont des effets sur la thyroïde, sur le système

¹¹⁶ Institut national de prévention et d'éducation pour la santé (2016) : *Risque d'incendie, A la maison, un réflexe en plus, c'est un risque en moins.*

¹¹⁷ Anses, *Évaluation des risques liés à l'exposition aux retardateurs de flamme dans les meubles rembourrés*, Édition scientifique, septembre 2015.

neurologique, des effets reprotoxiques et le PentaBDE et l’octaBDE sont cancérogènes avérés.

Si la toxicité des retardateurs de flamme bromés est assez bien documentée, il y a encore peu d’information à ce jour sur la toxicité des retardateurs de flamme phosphorés.

Émission dans l’air intérieur

Les retardateurs de flamme sont retrouvés dans l’air et les poussières de l’habitat. Ce qui conduit à de nombreuses voies d’exposition :

- Inhalation (air intérieur) ;
- Ingestion (poussières, mousses, tissus), en particulier pour les jeunes enfants avec le contact main/bouche (ex. modèle succion-ingestion) ;
- Absorption cutanée : dépôt sur la peau *via* le contact direct avec les meubles rembourrés, les tissus et autres produits contenant des retardateurs de flamme.

L’impact sanitaire des retardateurs de flamme va dépendre de la quantité de substance libérée dans l’environnement. En fonction de leurs propriétés, les composés émis par les matériaux se partagent entre la phase gazeuse, les particules en suspension ou sédimentées (poussières) et les dépôts sur les surfaces (y compris la peau). Par conséquent, leur répartition entre l’air, les particules et les surfaces est complexe et la détermination de la fraction émise par les matériaux reste difficile à évaluer.

Toutefois, le rôle des expositions *via* les poussières est de plus en plus pris en compte, à la fois comme voie d’exposition de l’enfant, mais aussi comme indicateur de contamination de l’habitat. Ainsi, au niveau français, les niveaux de concentration de PBDE dans les poussières sont, de plus en plus, investigués dans les logements habités par des enfants¹¹⁸.

¹¹⁸ Présence avérée des BDE-47, 99, 100 et 209.

Peu d’information existe, au niveau national, sur les molécules de substitution, telles que les nouveaux retardateurs de flamme bromés (NBFR) et les retardateurs de flamme organophosphorés (OPFR) alors qu’au niveau international, les premières études montrent leur présence dans les différents compartiments de l’environnement.

Introduite dans les années 1970, la réglementation en matière de sécurité incendie concernant le mobilier varie selon les continents ; elle témoigne des divergences d’interprétation sur l’efficacité des tests proposés ainsi que sur l’appréciation des effets sanitaires et environnementaux susceptibles de résulter d’un recours généralisé aux retardateurs de flamme.

Le projet de recherche : EMIFLAMME

Ce projet de recherche vise à améliorer la connaissance sur l’exposition et les risques afférents aux ignifugeants présents dans le mobilier mis sur le marché en France. Il repose sur plusieurs approches complémentaires :

- L’application et l’adaptation de protocoles de tests (mesures) ;
- L’effet du vieillissement (usure, abrasion) des matériaux ignifugés contenus dans les meubles rembourrés domestiques sur les émissions des retardateurs de flamme ;
- Une expérimentation *in situ* sur plusieurs mois pour élargir le périmètre de la recherche dans un cadre de vie réel (ou de travail).

Méthodologie

Les études et les publications « grand public » se réfèrent principalement aux retardateurs de flamme présents dans du mobilier rembourré domestique. Or, au vu de la réglementation française, les produits les plus susceptibles de contenir des retardateurs de flamme sont les mobiliers professionnels. Une première phase consistera donc à identifier la typologie des

meubles concernés (domestique comme professionnel), les volumes et les matériaux concernés par ces produits, les agents ignifugeants employés ainsi que leur mode d'application.

À partir de cette étude de marché, des produits seront sélectionnés pour des tests et adaptations de protocoles de mesures. Cette phase portera sur l'adaptation et l'extension de trois méthodes destinées aux mesures d'émission des matériaux, à la quantification des concentrations dans l'air intérieur (phases gazeuse et particulaire) et aux mesures de migration (salive et sueur). Les résultats de cette seconde phase permettront de définir le périmètre des études suivantes en laboratoire et *in situ*.

Abréviations utilisées

ADN, Acide désoxyribonucléique

Afnor, Association française de normalisation

AhR, De l'anglais, "*Aryl hydrocarbon Receptor*" (récepteur hormonal)

AMP, Assistance médicale à la procréation

Anses, Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail

AR, De l'anglais, "*Androgen Receptor*" (récepteur hormonal)

ARN, Acide ribonucléique (molécule biologique)

ATB, Antibiorésistance (résistance aux antibiotiques)

ATBC, Acétylcitrate de tributyle

BADGE, Bisphénol A diglycidyléther

BaP, Benzo(a)pyrène

BHT, Hydroxytoluène butylé

BPA, Bisphénol A

BPAF, 1,1,1,3,3,3-hexafluoro-2,2-bis(4-hydroxyphényl)propane (bisphénol fluoré)

BPS, Bisphénol S (4,4'-sulfonyldiphénol)

CE, Commission européenne

CIRC, Centre international de Recherche sur le Cancer

Cis-CTAC, Cis-1(3-chloroallyl)-3,5,7-triaza-1-azonia adamantane chlorure

CLP, De l'anglais, "*Classification, Labelling and Packaging of substances and mixtures*" (règlement européen n° 1272/2008, entré en vigueur le 20 janvier 2009)

CMR, Substance cancérigène, mutagène ou reprotoxique (toxique pour la reproduction)

COSV, Composé organique semi-volatil

COV, Composé organique volatil

CSN, Cellule souche neurale

DDT, Dichlorodiphényltrichloroéthane

DEGME, 3-méthoxy éthoxy éthanol

DEHTP, Téréphtalate de bis(2-éthylhexyle)

DGAI, Direction générale de l'alimentation (Ministère de l'agriculture)

DGCCRF, Direction générale de la concurrence, de la consommation et de la répression des fraudes (Ministère de l'économie)

DGS, Direction générale de la santé

DINCH, Cyclohexane-1,2-dicarboxylate de diisooxyméthyle

DOIP, Di-2-éthylhexyle isophtalate

EAT, Étude de l'alimentation totale

EATi, Étude de l'alimentation totale portant sur la population infantile (enfants moins de trois ans)

ECHA, De l'anglais, "*European Chemical Agency*" (Agence européenne des substances chimiques)

EE2, Ethinylestradiol

EFSA, De l'anglais, "*European Food Safety Authority*" (l'Autorité européenne de sécurité des aliments)

ER, De l'anglais, "*Estrogen Receptor*" (récepteur hormonal)

ERP, Etablissement Recevant du Public

FAO, De l'anglais, "*Food and Agriculture Organization*" (Organisation des Nations Unies pour l'alimentation et l'agriculture)

FIV, Fécondation *in vitro*

GFP, De l'anglais "*green fluorescent protein*" (protéine fluorescente verte)

HAP, Hydrocarbure aromatique polycyclique

HT, Hormone thyroïdienne

ICSI, De l'anglais, "*Intracytoplasmic sperm injection*" (injection d'un seul spermatozoïde dans l'ovocyte)

Irset, Institut de recherche en santé, environnement et travail

Kp, Kisspeptine (peptide hypothalamique)

LMR, Limite maximale réglementaire

LMW, De l'anglais "*low molecular weight*" (faible masse moléculaire)

MBP, Phtalate de monobutyle

MCDA, Matériaux en contact des denrées alimentaires

MCDE, Matériaux en contact de l'eau à la consommation humaine

MiBP, Phtalate de mono-isobutyle

MTBE, Methyl-tertiary-butyl-éther

NAFLD, De l'anglais, "*Non-alcoholic fatty liver disease*" (stéatose hépatique non alcoolique)

NASH, De l'anglais, "*Non-alcoholic Steato-Hepatitis*" (stéato-hépatite non alcoolique)

NBFR, Nouveaux retardateurs de Flamme Bromés

NGS, De l'anglais, "*Next-generation sequencing*" (séquençage haut débit)

OC, Organochlorés

OCDE, Organisation de coopération et de développement économiques

OMS, Organisation mondiale de la Santé

OPFR, Retardateurs de Flamme OrganoPhosphorés

OPP, O-phénylphénol

PBDE, Retardateurs de flamme poly-bromés (polybromodiphényléthers)

PBT, Substance persistante, bioaccumulable et toxique

PCB, Polychlorobiphényles (ex. PCB-11, PCB-44, PCB-153)

PCBF, Polychloro-dibenzofuranes

PCDD, Polychloro-dibenzoparadioxines

PE, Perturbateur endocrinien

PES, Polyéthersulfone

PFOS et PFOA, Dérivés du perfluorooctane

PHRC, Programme Hospitalier de Recherche Clinique

PK, De l'anglais, "*pharmacokinetics*" (pharmacocinétique)

PM, Poids moléculaire

PNR EST, Programme national de recherche en Environnement-Santé-Travail

PNUE, Programme des Nations Unies pour l'Environnement

PPAR, De l'anglais, "*Peroxisome proliferator-activated receptor*" (récepteur activé par les proliférateurs de peroxisomes)

POP, Polluant organique persistant

PTCE, Phosphate de tris(2-chloroéthyle)

PUF, Particule ultra-fine

PVC, Polychlorure de vinyle

PXR, De l'anglais, "*pregnane X receptor*" (récepteur nucléaire)

QI, Quotient intellectuel

QS, De l'anglais, "*Quorum sensing*" (système de communication entre les bactéries)

RAC, Comité d'évaluation des risques de l'ECHA

REACH, De l'anglais, "*Registration, evaluation, authorization and restriction of chemical*" (règlement européen entré en vigueur en 2007 pour sécuriser la fabrication et l'utilisation de substances chimiques dans l'industrie européenne - règlement No 1907/2006)

RFRP, De l'anglais, "*RFamide-Related Peptide*" (peptide hypothalamique)

RNaseq, De l'anglais, "*RNAsequencing*" (séquençage de l'ARN)

SEAC, Comité d'évaluation socio-économique

SEP, Sclérose en plaques

SGH, Système général harmonisé (de classification et d'étiquetage des produits chimiques)

SNPE, Stratégie nationale sur les perturbateurs endocriniens

SPE, De l'anglais, "*Solid Phase extraction*"

SPME, Microextraction sur Phase Solide

SVHC, De l'anglais, "*substance of very high concern*" (substance extrêmement préoccupante, cf. article 57)

TBC, Citrate de tributyle

TCPP, Tris(2-chloroisopropyl) phosphate

TCS, Triclosan

TDCPP, Phosphate de tris(dichloropropyle)

TND, Troubles neuro-développementaux

TSA, Troubles du spectre autistique

TXIB, Diisobutyrate de 2,2,4-triméthyl-1,3-pentanediol

VLEP, Valeur limite d'exposition professionnelle

vPvB, Substance très persistante et très bioaccumulable

VTR, Valeur toxicologique de référence

Table des illustrations

Illustration 1 : Principales glandes du système hormonal.....	6
Illustration 2 : Courbe en « U » inversé.....	7
Illustration 3 : Omniprésence des perturbateurs endocriniens (Crédits : iStock by Getty Images).....	8
Illustration 4 : SGH 08 « Danger pour la santé »	10
Illustration 5 : SGH 09 « Danger pour l’environnement ».....	10
Illustration 6 : Bouteille en plastique (Crédits : iStock by Getty Images).....	11
Illustration 7 : Dans la catégorie 7, on trouve divers plastiques dont les polycarbonates qui peuvent contenir du BPA.....	11
Illustration 8 : Emballages alimentaires (Crédits : iStock by Getty Images).....	14
Illustration 9 : L’été, le hamster sibérien est sexuellement actif, gros et gris (Auteur : Paul Klosen, INCI Strasbourg).....	16
Illustration 10 : L’hiver, le hamster sibérien est sexuellement quiescent, maigre et blanc (Auteur : Paul Klosen, INCI Strasbourg).....	17
Illustration 11 : Nerf optique de xénope montrant les axones myélinisés (en bleu) et les cellules myélinisantes (oligodendrocytes, en vert) – Auteur : Élodie Martin	19
Illustration 12 : Essai de prolifération Incucyte (DU 145)	21
Illustration 13 : L’exposition des enfants aux pesticides (Crédits : iStock by Getty Images)	23
Illustration 14 : Fluorescence <i>in vivo</i> de la GFP (vert) dans les ovaires d’une femelle de la lignée <i>cyp19a1a-GFP</i> (Auteures : Julie De Oliveira et nathalie Hinfray).....	26
Illustration 15 : Xénope tropicalis adulte (Auteur : Muriel Raveton).....	28
Illustration 16 : Substitution du bisphénol A (Anses Éditions, mars 2013)	31
Illustration 17 : Contenu chromosomique d’ovocytes (stade métaphase II) de souris adultes exposées in utero au BPAF (droite) et au solvant (condition contrôle, à gauche)	33
Illustration 18 : Biberon en plastique (Crédits : iStock by Getty Images).....	36
Illustration 19 : Jouets et équipements en matière plastique destinés aux enfants de moins de trois ans (Anses Éditions, août 2016)	38
Illustration 20 : Amibe infectée par <i>Legionella pneumophila</i> marquée par la protéine fluorescente verte (Auteurs : Drs Alexandre Crépin et Julien Verdon, EBI, UMR 7267, Univ. Poitiers).....	39
Illustration 21 : Biofilm de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> (Auteur : Dr Emeline Bouffartigues, LMSM, Univ. Rouen Normandie)	40
Illustration 22 : <i>Caenorhabditis elegans</i> infecté par <i>Pseudomonas aeruginosa</i> (Auteur : Pr. Olivier Lesouhaitier, LMSM, Univ. Rouen Normandie).....	41
Illustration 23 : Évaluation des risques liés à l’exposition aux retardateurs de flamme dans les meubles rembourrés (Anses Éditions, sept. 2015)	42

Mentions légales

Ce numéro des *Cahiers de la Recherche* a été réalisé par l'Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail (Anses) dans le cadre de l'animation et de la valorisation du Programme National de Recherche en Environnement-Santé-Travail (PNR EST).

Ont contribué à ce numéro

Nicolas Chevalier, Inserm, CHU de Nice - **Sylvie Chevalier**, Université Rouen Normandie – **Jean-Baptiste Fini**, Muséum national d'Histoire naturelle - **Frédéric Flamant**, École Normale Supérieure de Lyon - **Véronique Gayrard**, Inra, Toxalim, Toulouse - **Nathalie Hinfrey**, Ineris, Verneuil-en-Halatte - **Gabriel Livera**, UMR U1274, Fontenay-aux-Roses - **Laila Mselli-Lakhal**, Toxalim, Toulouse – **Claire Philippat**, Institut pour l'avancée des biosciences, Site santé - **Clémence Rawas**, FCBA, Champs-sur-Marne - **Sylvie Remaud**, Muséum national d'Histoire naturelle - **Stéphane Reynaud**, CNRS Grenoble - **Virginie Rouiller-Fabre**, Université Paris Diderot, Paris 7 - **Valérie Simonneaux**, CNRS Strasbourg

Remerciements

Nous remercions l'ensemble des contributeurs, et plus particulièrement, Charly Blanc, Katia Blonbou, Émilie Bossanne, Émeline Bouffartigues, Marthe-Louise Boye, Agnès Brion, Dominique Colin, Fabrice Coutureau-Vicaire, Alexandre Crépin, Armelle Degeorges, Hélène Desqueyroux, Isabelle Domain, Christine Druésne, Laëtitia Dubois, Catherine Gourlay-France, Sophie Guittou, Paul Klosen, Fanny Kouguere, Delphine Lascar, Gérard Lasfargues, Ivan Le Gallo, Sophie Le Quellec, Olivier Lesouhaitier, Élodie Martin, Thierry Mercier, Frieda Ngoué, Sabine Puisseux, Muriel Raveton, Christophe Rousselle, Matthieu Schuler, Anne Tilloy, Julien Verdon, Elsa Vidal

Directeur de la publication :

Roger GENET (Directeur général, Anses)

Conception et réalisation :

Nathalie RUAUX (Direction financement Recherche et Veille, Anses)

Suivez l'actualité de l'Agence sur les réseaux sociaux



@Anses_fr



<https://www.linkedin.com/company/french-agency-for-food-environmental-and-occupational-health-&-safety-anses->

Archives ouvertes

HAL-Anses est la plateforme d'auto-archivage permettant le dépôt et la consultation de l'ensemble de la production scientifique des chercheurs et des évaluateurs scientifiques de l'Anses (hors avis).

Découvrez la collection des *Cahiers de la Recherche* sur la plateforme d'archive ouverte HAL-Anses !

The screenshot shows the HAL-Anses website interface. At the top, there is a navigation bar with logos for CCSD, HAL, Episciences.org, Sciencesconf.org, and Support. Below this is the 'LES CAHIERS DE LA RECHERCHE' logo, which includes the text 'Santé, Environnement, Travail'. A secondary navigation bar contains links for 'Page d'accueil', 'Consultation', 'Recherche', and 'Site internet'. The main content area is divided into several sections: 'ACTUALITÉS' featuring an article titled 'RÉSISTANCES ET MÉTHODES ALTERNATIVES' dated 28/12/17, 'RECHERCHE' with a search input field, and 'MOTS CLÉS' listing various scientific keywords such as 'Pesticide', 'Exposition', 'Cancer', 'Pollution', 'Environnement', 'Nanotechnologies', and 'Perturbateur endocrinien'. At the bottom of the screenshot, there is a small image of several 'Cahiers de la Recherche' publications.

<https://hal-anses.archives-ouvertes.fr/CAHIERS DE LA RECHERCHE>

L'archive ouverte pluridisciplinaire HAL est destinée au dépôt et à la diffusion d'articles scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.





Agence nationale de sécurité sanitaire
de l'alimentation, de l'environnement et du travail
14 rue Pierre et Marie Curie
94701 Maisons-Alfort Cedex
www.anses.fr [@Anses_fr](https://twitter.com/Anses_fr)