

Les perturbateurs endocriniens

Comprendre où en est la recherche

Juin 2024



anses

Editorial

Les perturbateurs endocriniens. Cette appellation désigne une grande diversité de substances chimiques qui font partie de notre quotidien, présents dans des produits de consommations et utilisés pour des applications agricoles ou industrielles. Comme d'autres contaminants, ils se retrouvent dans l'environnement et les organismes vivants, humains ou animaux, dont ils perturbent les systèmes hormonaux. Parmi les nombreuses substances qui agissent sur les systèmes endocriniens, certaines mettent en défaut les régulations hormonales de l'organisme et ont – par ce mode d'action – des conséquences potentiellement graves pour la santé humaine et celle des écosystèmes : ce sont elles qui sont désignées « perturbateurs endocriniens ». Ils constituent une préoccupation forte de la société qui a bien conscience des problématiques de santé associées. Le règlement européen CLP (classification, étiquetage, emballage) a récemment intégré le caractère « perturbateur endocrinien » (PE) comme une classe de danger, au même titre que le caractère mutagène ou reprotoxique, par exemple.

Estimer et prévenir les impacts sur la santé des PE est bien un des enjeux actuels majeurs en matière de santé publique. Ces dernières années, le nombre de substances classées PE s'accroît avec l'amélioration des connaissances. L'Anses joue un rôle essentiel dans ce domaine en menant d'importants travaux d'évaluation pour notamment identifier les substances à caractère perturbateur endocrinien. Dans le cadre de la stratégie nationale sur les perturbateurs endocriniens (SNPE) dont s'est dotée la France depuis 2014, l'agence s'est vue confier l'évaluation d'une liste de substances suspectées PE, mise à jour chaque année.

Pour évaluer et réglementer, il est nécessaire de s'appuyer sur des connaissances scientifiques et donc primordial de soutenir la communauté scientifique. L'Anses joue là encore un rôle important en tant que financeur de la recherche grâce au Programme national de recherche environnement-santé-travail, le PNR EST, levier important de la SNPE. Depuis 2012, **plus de 100 projets de recherche** ont été financés sur les perturbateurs endocriniens dont une majorité à partir de 2018 grâce au soutien spécifique apporté pour cette thématique par le ministère de l'environnement. Dix-sept d'entre eux sont présentés dans ce numéro des Cahiers de la recherche.

Ce soutien est essentiel pour la communauté scientifique tant le travail de recherche à réaliser est immense et complexe. Leur mode d'action fait des perturbateurs endocriniens une famille à part, d'abord parce que, pour certaines d'entre elles, leurs effets s'observent dès les faibles doses et ensuite parce que l'exposition chronique à ces substances lors de périodes sensibles de la vie, telles que la grossesse ou la vie périnatale, peut générer des effets à long terme chez l'individu et pour sa descendance.

Pour déterminer l'impact sanitaire des perturbateurs endocriniens, une question difficile à laquelle seule la recherche peut répondre est celle du lien entre l'exposition aux substances et les pathologies qui pourraient en découler. En effet, définir un caractère toxique et quantifier

l'exposition n'est pas suffisant pour affirmer qu'une ou des substances sont à l'origine d'une maladie surtout dans le cas des pathologies multifactorielles comme le cancer. L'épidémiologie, associée à d'autres disciplines comme la toxicologie, les sciences de l'exposition, les sciences humaines et sociales etc. sont des clés pour apporter des éléments de réponses et faire progresser nos connaissances du danger.

Dans ce numéro des cahiers de la recherche, les projets présentés illustrent ces sujets d'intérêt. Les articles présentent les démarches des chercheurs pour répondre à ces questionnements, ainsi que des résultats préliminaires et les résultats attendus. La recherche sur les perturbateurs endocriniens progresse : les résultats à venir seront d'un grand intérêt pour combler les besoins de connaissances, encore nombreux, et aussi pour alimenter les travaux d'expertise et d'évaluation du danger et des risques sur ces substances. A l'heure du bilan de la deuxième stratégie nationale sur les perturbateurs endocriniens, il est important de rappeler que le soutien à la recherche est une clé majeure : la complexité du mode d'action des PE sur le vivant nécessite une compréhension fine des mécanismes d'interaction avec le vivant pour soutenir les décisions réglementaires de classement – par le nouveau règlement - d'encadrement voire d'éviction des substances PE.

P^r Benoit VALLET

Directeur général, Anses

Sommaire

Le système endocrinien dans l'espèce humaine	4
Introduction générale.....	5
L'exposition alimentaire aux polluants organiques persistants	17
Les effets combinés de la malbouffe et des perturbateurs endocriniens	19
L'alimentation, source d'exposition précoce aux perturbateurs endocriniens	22
Bioaccumulation et effets des perturbateurs endocriniens sur la luzerne et la tomate	24
Les effets transgénérationnels des néonicotinoïdes	26
Dépister les perturbateurs endocriniens en milieux aquatiques	28
La biosurveillance des milieux aquatiques	30
L'exposition des truites à un pesticide, le tébuconazole.....	32
Les effets potentiels du fluorure de sodium sur la truite arc-en-ciel.....	34
Le rôle des perturbateurs endocriniens dans l'apparition et le développement des maladies hépatiques...	37
Pesticides à manganèse : effets d'une exposition chronique à faibles doses.....	39
L'exposition chronique à de faibles doses de pesticides <i>via</i> l'alimentation	42
La diminution de la fécondité chez le poisson zèbre	44
Identification des protéines cibles des perturbateurs endocriniens	46
Identifier les perturbateurs endocriniens par modélisation.....	47
L'impact du BPA sur les troubles neuro-développementaux	49
Les effets de l'exposition prénatale aux PE sur la santé des adolescents	51
Abréviations utilisées.....	54
Table des illustrations	56
Mentions légales.....	57
Archives ouvertes.....	58

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 ou l'Anses et les partenaires associés. Pour toute question, les contacts sont indiqués en tête de chaque article.

Le système endocrinien dans l'espèce humaine

Le système endocrinien est un ensemble d'organes (hypophyse, thyroïde, thymus, glandes surrénales, pancréas, ovaires et testicules) qui secrètent des hormones¹ diffusées dans notre corps par le sang. Il est indispensable au bon fonctionnement de notre organisme.

En effet, les hormones agissent comme des « messagers » chimiques transportés par des protéines dans le sang jusqu'à des cellules cibles. Elles se lient alors à un récepteur spécifique, ce qui déclenche un processus physiologique tel que la division cellulaire. Elles contrôlent ainsi des fonctions vitales comme la croissance et le développement, le métabolisme², la régulation de la température corporelle, la glycémie³, le sommeil et le système reproducteur. Ce qui signifie que la moindre altération du système endocrinien peut perturber notre équilibre et jouer ainsi un rôle dans l'apparition et le développement des maladies métaboliques (ex. obésité, diabète, dyslipidémie) et cardiovasculaires.

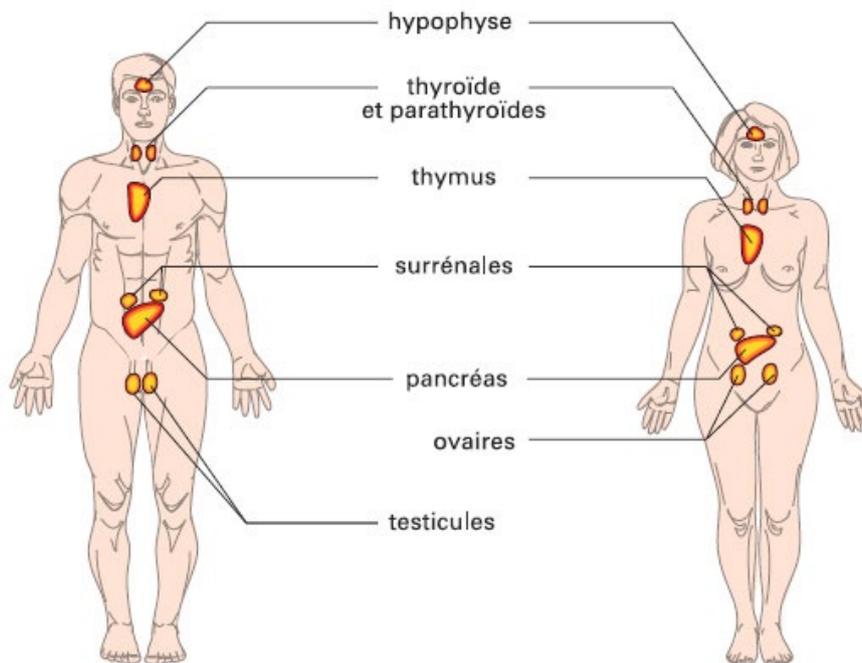


Illustration 1 : Le système endocrinien (Source : INRS)

¹ Du grec *hormáô*, mettre en mouvement.

² L'ensemble des réactions chimiques qui se déroulent au sein de l'organisme comme la digestion ou à l'intérieur de chaque cellule d'un être vivant.

³ Le taux de sucre dans le sang.

Introduction générale

Les maladies chroniques, aussi appelées maladies non transmissibles (MNT), sont à l'origine de 41 millions de décès chaque année, soit 74 % de l'ensemble des décès dans le monde selon l'Organisation mondiale de la santé⁴. Au premier rang de ces maladies qui sont de longue durée, figurent les maladies cardiovasculaires suivies par les cancers, les maladies respiratoires chroniques et les maladies métaboliques comme le diabète et l'obésité. À l'échelle mondiale, le nombre de cas d'obésité a presque triplé depuis 1975 au point d'évoquer une « épidémie ». De même, la prévalence du diabète de type 2 a beaucoup augmenté passant de 4,7 % en 1980 à 8,8 % en 2017. Ce qui représente 64 millions de personnes en Europe, dont 3,3 millions en France.

Parmi les facteurs de risque qui contribuent au développement de ces maladies, « une mauvaise alimentation et un manque d'activité physique peuvent se traduire par une hypertension artérielle, une hyperglycémie, une élévation des lipides dans le sang et l'obésité »⁵. Selon Francesca Romana Mancini, « bien que des actions de prévention aient été mises en place (ex. vigilance, hygiène de vie, diététique), elles ne suffisent pas à inverser la tendance »⁶. D'où la nécessité de s'interroger sur d'autres déterminants comme d'éventuels facteurs de risques environnementaux.

L'attention s'est tournée vers la pollution chimique et ses effets potentiels de perturbation endocrinienne. « Ainsi, rappelle Hélène Hardin-Pouzet, le déclin de la santé reproductive coïncide avec une multiplication par 20 de l'utilisation de produits chimiques (naturels et synthétiques) depuis la fin de la seconde Guerre mondiale »⁷.

Les polluants organiques persistants (POP)

L'histoire commence ainsi. Après avoir reçu une lettre d'une femme qui lui disait que, dans le Massachusetts (États-Unis), le DDT utilisé comme insecticide ne s'en prenait pas qu'aux insectes mais tuait aussi les oiseaux, la biologiste américaine Rachel Carson (déjà connue pour ses études sur la vie aquatique) s'est intéressée à la disparition soudaine de l'aigle, symbole de la nation américaine, faisant le rapprochement avec d'autres rapaces. En effet, des scientifiques avaient constaté autour des grands lacs d'Amérique du nord, une diminution importante des populations de balbuzards pêcheurs et de faucons pèlerins.

Or, les marais côtiers avaient été pulvérisés de DDT et d'autres produits similaires, pour détruire les moustiques. Ces insecticides avaient persisté dans les écosystèmes et s'étaient accumulés dans la chaîne alimentaire : d'où la contamination indirecte des poissons. Rachel Carson exposa sa théorie en 1962 dans un livre intitulé *Silent Spring* qui marque, d'après Al Gore, « la

⁴ OMS, *Maladies non transmissibles, principaux faits*, 16 septembre 2023.

⁵ Site internet : <https://www.who.int/fr/news-room/fact-sheets/detail/noncommunicable-diseases#cms>

⁶ Francesca Romana Mancini, *L'exposition alimentaire aux polluants organiques persistants*

⁷ Hélène Hardin-Pouzet, *Les effets combinés de la malbouffe et des perturbateurs endocriniens*

naissance du mouvement écologiste »⁸. Ses travaux s'appuyaient sur des données scientifiques, recueillies auprès de nombreux chercheurs et experts ; elle fut la première à s'attaquer au problème posé par les polluants organiques persistants (POP) et sensibiliser une partie de l'opinion publique.

Depuis ces années, divers phénomènes ont été observés : les troubles de la reproduction des visons américains et des loutres, la contamination des gastéropodes marins (1972), le développement de poissons hermaphrodites en Grande-Bretagne, le micro-pénis des alligators du lac Apopka en Floride (1988), les défaillances du système immunitaire des phoques gris (1987-1988) et des ours polaires (2003), la disparition des abeilles (2012), etc. C'est parce que ces observations concernant la faune sauvage se sont multipliées, que des scientifiques de disciplines différentes⁹ se réunissent à Wingspread (Wisconsin, États-Unis) en juillet 1991 pour partager leurs interrogations autour de Theo Colborn, spécialiste de la santé environnementale. Ils conjecturent un lien entre les altérations de la reproduction des animaux et celles observées chez une partie de la population humaine. Ils comparent aussi les effets de certains polluants chimiques chez l'animal avec ceux observés chez les femmes traitées par le distilbène R ou diéthylstilbestrol (DES) tels que l'augmentation de la fréquence des malformations congénitales et des cancers ainsi que la baisse de la fertilité. Pour cette dernière substance, les conséquences de telles perturbations sont graves et pourraient même perdurer sur plusieurs générations. Elles se manifestent non seulement sur les enfants exposés durant la vie intra-utérine, mais peut-être aussi chez leurs enfants. Ainsi, on a rapporté une augmentation du risque d'une malformation des organes génitaux mâles chez les enfants dont la mère avait été exposée au DES pendant sa grossesse. Pour la première fois, on met en évidence un nouveau type d'effets : les maladies « transgénérationnelles »¹⁰. Et si des polluants agissaient de même ? C'est la question posée par Theo Colborn, Dianne Dumanoski et John Peterson Myers dans un livre publié en 1996 : *Our stolen future*¹¹.

À cette époque, attribuer les troubles de la reproduction à des polluants chimiques était le sujet le plus controversé. Il faut rappeler que certaines de ces substances largement utilisées, comme le DDT, présentaient une efficacité dans la lutte préventive contre les insectes vecteurs de certaines maladies comme le paludisme. Comment pouvaient-elles provoquer des altérations du développement ? Les scientifiques ont fait le rapprochement avec les hormones qui jouent un rôle dans le développement de l'organisme, y compris des organes reproducteurs, à de faibles doses. C'est ainsi qu'on a parlé d'« *endocrine disruptors* », expression utilisée pour la première fois lors de la Conférence de Wingspread.

⁸ Rachel Carson, *Printemps silencieux*, Introduction de la traduction française, coll. Domaine sauvage, Éditions Wildproject, 2009.

⁹ Anthropologie, écologie, endocrinologie, immunologie, médecine, psychiatrie, toxicologie, zoologie...

¹⁰ Emmanuelle Fillion, Didier Tornay. Distilbène, quelles leçons sociologiques ? : Distilbène : quelles leçons sociologiques ? Une expérience médicale et sociale des perturbateurs endocriniens. Les cahiers de la Recherche : Santé, Environnement, Travail, 2012, Les perturbateurs endocriniens, 1, pp.39-41. ([anses-01685730](#))

¹¹ Dianne Dumanoski, John Peterson Myers et Theo Colborn, *L'homme en voie de disparition ?*, Terre vivante, Mens, 1997.

Les perturbateurs endocriniens

Depuis 1991, de nombreuses substances chimiques utilisées dans des applications agricoles, industrielles et domestiques sont suspectées d'avoir une influence sur le système endocrinien, entraînant des effets nocifs pour la santé des animaux et des humains (anomalies du développement, troubles de la reproduction...).

« Un perturbateur endocrinien est une substance ou un mélange de substances qui altère les fonctions du système endocrinien et, de ce fait, induit des effets nocifs sur la santé d'un organisme intact, de ses descendants ou de (sous-) populations ».

Définition de l'OMS proposée en 2002 et mise à jour en 2012

D'origine naturelle ou synthétique, les perturbateurs endocriniens sont présents dans notre environnement quotidien. Ces substances ou composés chimiques peuvent être des polluants organiques persistants (comme les composés perfluorés, les retardateurs de flamme bromés, les solvants, etc.), des pesticides, des plastifiants, des cosmétiques, des médicaments et des produits pharmaceutiques. La question de leurs effets et de leur possible rôle dans la recrudescence de certaines maladies non transmissibles (MNT) inquiète vivement scientifiques et pouvoirs publics : en particulier l'exposition précoce, voire prénatale, qui pourrait être impliquée dans l'augmentation de ces maladies. C'est le concept des origines développementales de la santé et des maladies ou DOHaD¹² : l'hypothèse selon laquelle une exposition durant la période de développement du fœtus et du jeune enfant (même à faibles doses et à des degrés variables) endrait les individus adultes potentiellement plus sensibles au développement de certaines maladies.. Comme l'explique Annabelle Bédard par exemple, l'exposition précoce aux PE *via* l'alimentation « pourrait avoir un impact délétère sur la santé respiratoire des enfants »¹³.

Le principe de précaution

Cette préoccupation a eu des répercussions dans la réglementation, conduisant la Commission européenne à définir une stratégie commune et dresser un état de l'art sur l'évaluation des perturbateurs endocriniens. Lors de la Convention de Stockholm (2001), des organisations non gouvernementales (ONG) et des industriels se sont réunis autour des États membres pour préconiser des actions à court, moyen et long termes. Pour « parer aux menaces liées aux substances chimiques », ils ont insisté sur le principe de précaution. Parmi les substances produites en fort volume, figuraient ainsi plus de 553 perturbateurs endocriniens (PE) **potentiels** devant être examinés en priorité.

¹² De l'anglais, "Developmental origin of health and adult diseases", concept émis par l'épidémiologiste anglais David Barker.

¹³ Annabelle Bédard, *L'alimentation source d'exposition précoce aux perturbateurs endocriniens*.

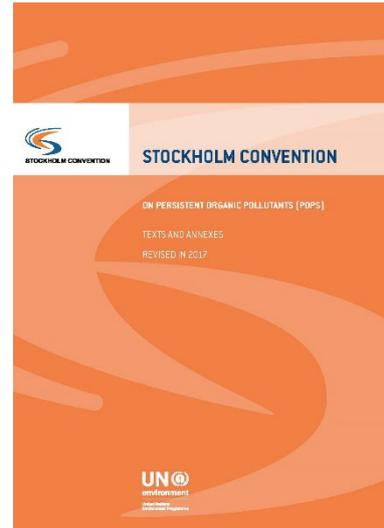


Illustration 2 : Convention de Stockholm sur les Polluants Organiques Persistants (POP)

Signée le 22 mai 2001, la convention de Stockholm concernait initialement 12 POP (« les 12 salopards ») dont les résidus pouvaient se retrouver dans l’environnement, puis être absorbés. Fut ainsi interdit l’usage de certains termiticides (chlordane, heptachlore et mirex), insecticides (aldrine, dieldrine, endrine), hexachlorobenzène ou HCB (solvant dans les pesticides), polychlorodibenzo-*p*-dioxines et dibenzofuranes (PCDD/PCDF), toxaphène et agents ignifugeants comme les polychlorobiphényles (PCB) et restreint l’usage du DDT en raison du faible bénéfice par rapport au risque. Puis, d’autres substances ont été ajoutées : lindane, chlordécone, endosulfan, etc.

Certains insecticides sont connus, par exemple, pour être toxiques contre une gamme limitée d’insectes ravageurs nuisibles pour les cultures agricoles et les jardins. Mais, comme l’affirme Davide Degli Esposti, « ils peuvent aussi avoir des effets indésirables sur des espèces animales non ciblées, y compris l’être humain »¹⁴.

La biosurveillance environnementale

Selim Ait-Aissa s’interroge : « Comment identifier les substances émergentes à surveiller dans les milieux aquatiques ? Comment prioriser celles qui présentent le plus de risques, notamment celles qui ont des activités de perturbation endocrinienne ? Comment les surveiller efficacement ?¹⁵ ». Il propose de combiner des essais biologiques et des analyses chimiques pour mettre en œuvre « une stratégie bio-analytique innovante » d’identification des PE dans les milieux aquatiques.

¹⁴ Davide Degli Esposti, *Dépister les perturbateurs endocriniens en milieux aquatiques*

¹⁵ Selim Ait-Aissa, *La biosurveillance des milieux aquatiques*

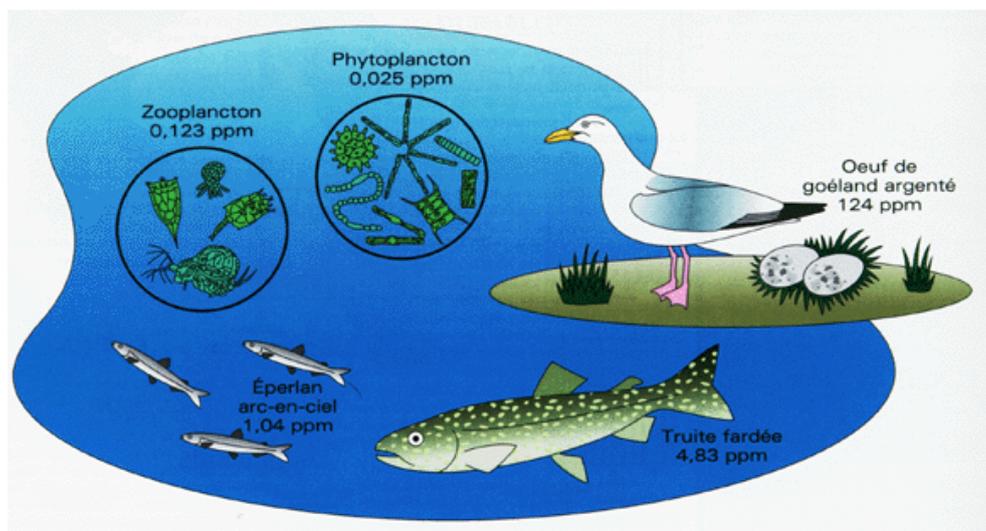


Illustration 3 : Bioaccumulation, la chaîne trophique des Grands Lacs
(Source : Environmental Protection Agency - 1 ppm = 1mg/kg ou 1 mg/L)

Bien qu'interdites d'utilisation, certaines molécules se retrouvent aujourd'hui encore dans l'environnement. Beaucoup comme les néonicotinoïdes, par exemple, se dégradent lentement dans les milieux de sorte que les humains, explique Fatima Smagulova, « sont exposés à ces substances à chaque fois qu'ils consomment des légumes ou des fruits. »¹⁶ La compréhension des effets des PE demande ainsi d'adopter une vision intégrative en plaçant l'homme dans son environnement (exposome) 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.

L'évaluation des risques

Bien que les perturbations endocriniennes fassent depuis longtemps l'objet de recherches (éco)toxicologiques, on assiste ces dernières années à préoccupation croissante de l'opinion publique sur ces thématiques englobées par le concept « *One Health, Une seule santé* » adopté en décembre 2007 par la communauté internationale. Ce concept signifie que « l'on ne peut pas s'occuper de la santé humaine si l'on ne se soucie pas aussi et en même temps de la santé animale, d'une part, et environnementale, de l'autre »¹⁷ ; il implique une démarche intégrée d'évaluation des risques sur les écosystèmes, la santé animale et humaine qui bouleverse les approches classiques.

Ainsi, pour mieux comprendre l'effet d'une mono- et co-exposition à deux perturbateurs endocriniens, le DEHP et le BPA, sur la santé de deux plantes (la luzerne et la tomate) et la santé des animaux qui s'en nourrissent, David Siaussat et ses partenaires propose ici « une étude intégrée multi-niveaux » en s'appuyant sur « des concentrations faibles et intermédiaires » au regard des mesures réalisées dans différentes matrices¹⁸.

¹⁶ Fatima Smagulova, *Les effets transgénérationnels des néonicotinoïdes*.

¹⁷ <https://www.inrae.fr/alimentation-sante-globale/one-health-seule-sante>

¹⁸ David Siaussat, *Bioaccumulation et effets des perturbateurs endocriniens sur la Luzerne et la tomate*.



Illustration 4 : L'exposition aux perturbateurs endocriniens
(Source : Ministère de l'environnement, PNSE 3, F. Chevallier)

La réglementation européenne

Après avoir progressivement pris en compte la problématique des PE dans différentes réglementations¹⁹ sectorielles (par exemple dans le cadre de REACH²⁰ depuis 2007, les PE sont considérés comme des substances extrêmement préoccupantes (SVHC, art. 57) au même niveau que les substances cancérigènes, mutagènes ou reprotoxiques²¹ (CMR), puis dans le cadre des règlements sur les produits phytopharmaceutiques²² en 2009 et biocides²³ en 2012), la Commission a œuvré pour établir une réglementation transversale à leur identification. Ceci s'est concrétisé en avril 2023 par l'inclusion de nouvelles classes de danger dans le règlement d'identification et de communication des Dangers, le règlement CLP²⁴ en Europe. Comme l'Anses l'a rappelé dans différentes communications, alors que les réglementations sectorielles ne permettaient pas, de « distinguer de manière graduée les substances PE en différentes catégories en fonction du niveau de plausibilité biologique ». La réglementation CLP permet,

¹⁹ Cécile. Michel, *How to regulate endocrine-disrupting chemicals? Feedback and future development*, Curr. Opin. Endocr. Metabol. Res., 7 (2019), pp. 21-25, 10.1016/j.coemr.2019.04.009

²⁰ De l'anglais, « *Registration, Evaluation, Authorization and restriction of Chemicals* ». Règlement (CE) No 1907/2006 du 18 décembre 2006 du Parlement européen et du Conseil concernant l'enregistrement, l'évaluation et l'autorisation des substances chimiques, ainsi que les restrictions applicables à ces substances.

²¹ Toxiques pour la reproduction.

²² Règlement (CE) No 1107/2009 du Parlement européen et du Conseil concernant la mise sur le marché des produits phytopharmaceutiques (21 octobre 2009).

²³ Règlement (UE) No 528/2012 du Parlement européen et du Conseil concernant la mise à disposition sur le marché et l'utilisation des produits biocides (22 mai 2012).

²⁴ Règlement (CE) n° 1272/2008, dit CLP pour classification, étiquetage et emballage des substances et des mélanges,

elle, de distinguer les PE avérés et présumés des suspectés. Cette évolutions et les problématiques qui persistent seront détaillées par Cécile Michel-Caillet²⁵.

La stratégie nationale sur les perturbateurs endocriniens (SNPE)

Depuis 2014, les pouvoirs publics français ont structurés les actions autour des perturbateurs endocriniens (PE) avec la mise en place d'une stratégie nationale sur les perturbateurs endocriniens (SNPE). Cette stratégie, copilotée par les ministères chargés de l'environnement et de la santé a permis de rationaliser les actions et de décupler leurs effets. Inscrite dans le 3^e Plan national santé environnement 2015-2019, elle s'articulait autour de quatre axes :

- **Recherche**, mieux connaître, tester et surveiller ;
- **Expertise**, évaluer les dangers et les risques associés à ces perturbateurs ;
- **Réglementation et innovation**, soutenir le renforcement de la réglementation européenne ;
- **Information**, sensibiliser aux risques pour éclairer les choix de consommation.



Illustration 5 : Élaboration d'une méthodologie d'évaluation du caractère perturbateur endocrinien des substances chimiques, Anses, Édition scientifique, avril 2021

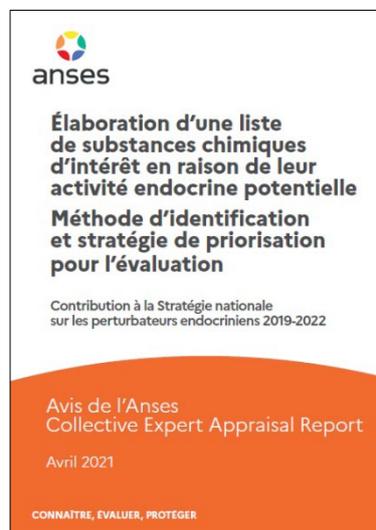


Illustration 6 : Élaboration d'une liste de substances chimiques d'intérêt en raison de leur activité endocrine potentielle, Anses, Édition scientifique, avril 2021

Dans le cadre de la SNPE 2 (2019-2022), l'Anses a publié deux avis portant sur l'évaluation des PE : l'élaboration d'une méthodologie d'évaluation d'une part et d'une liste de substances chimiques d'intérêt en raison de leur activité endocrine potentielle. Parmi les 906 substances listées et hiérarchisées, 16 jugées prioritaires ont été retenues pour faire l'objet d'une évaluation de leur danger en tant que PE²⁶. En réponse à ces travaux, le projet présenté ici par Laure Bellec

²⁵ Cécile Michel-Caillet, *How to regulate endocrine disrupting chemicals? Feedback and future development*, <https://doi.org/10.1016/j.coemr.2019.04.009>

²⁶ L'éthylbenzène, le protoxyde d'azote, la triéthanolamine ou trolamine, la mélamine ou cyanurotriamine, le perchloroéthylène ou tétrachloroéthylène, l'acide silicique ou sel de sodium, l'acétate de zinc, le bore, le nitrite de sodium, le chlorure de zinc, le bromure de sodium, le fluorure de sodium, le dichlorure de manganèse, l'acide dichloroacétique, le biphényle-4,4'-diol et le 2-méthoxy-2-méthylbutane.

visé à apporter des éléments de caractérisation des effets potentiels du fluorure de sodium chez la truite arc-en-ciel (*Oncorhynchus mykiss*) en ciblant de manière originale et novatrice, « les effets et les interactions sur le triptyque système hormonal thyroïdien, système immunitaire, microbiotes branchial et intestinal »²⁷.

Jusqu'à présent, la majorité des études publiées se concentrait sur l'exposition à un seul PE avec des protocoles d'exposition simple parfois éloignés des conditions réelles de contamination. C'est pourquoi beaucoup d'efforts sont consacrés, en écotoxicologie, à l'élaboration de procédures d'essai pour évaluer les effets PE.

Les procédures d'essai

Les tests validés par l'Organisation de coopération et de développement économiques (OCDE) permettent d'évaluer l'activité perturbatrice endocrinienne d'une molécule. Or, les perturbateurs endocriniens regroupent plusieurs centaines de composés. D'après Normand Podechard, si leurs effets perturbateurs sont en partie connus pour chacun d'entre eux, « leurs effets en mélange à des faibles doses sont très peu caractérisés »²⁸. Il propose d'envisager la larve du poisson-zèbre comme une alternative aux modèles animaux classiquement utilisés *in vivo* pour confirmer ou infirmer l'hypothèse selon laquelle l'exposition aux perturbateurs endocriniens serait aussi impliquée dans les maladies du foie regroupées sous l'expression anglaise de « *non-alcoholic fatty liver disease* » (NAFLD).

Une des difficultés concernant l'étude des PE est qu'ils peuvent induire des effets biologiques à des doses faibles alors que ce même effet n'est pas observable à des doses plus élevées. Il est donc nécessaire d'identifier des biomarqueurs qui permettent de détecter des perturbations endocriniennes phénotypiques et/ou moléculaires qui permettront de mesurer l'impact des co-expositions. Selon Pascal Loyer, ceci permettra « de réévaluer les seuils théoriques autorisés pour l'ensemble des pesticides »²⁹.

Ce qui conduit Safia Costes à évaluer « l'exposition alimentaire à un mélange de six pesticides (...) à des doses supposées ne pas exercer individuellement d'effets sur la santé (doses journalières admissibles) chez l'homme, mais rapportées pour induire en mélange un effet obésogène/diabétogène chez la souris conventionnelle (C57Bl/6J) mâle »³⁰.

Parmi les questions qui se posent aussi : « Comment passer des mesures faites en laboratoire à l'échelle individuelle à l'évaluation des risques au niveau collectif ? (...) Pour caractériser les effets non-intentionnels des produits phytopharmaceutiques sur les populations de poissons », Rémy Beaudouin propose l'approche dite chemin de l'effet adverse (AOP) qui permet de « reconstituer les étapes qui ont lieu à différents niveaux de l'organisation biologique (...) entre un événement déclencheur au niveau moléculaire et un effet néfaste sur l'organisme » et de

²⁷ Laure Bellec, *Les effets potentiels du fluorure de sodium sur la truite arc-en-ciel*.

²⁸ Normand Podechard, *Le rôle des perturbateurs endocriniens dans l'apparition et le développement des maladies hépatiques*.

²⁹ Pascal Loyer, *Pesticides à manganèse : effets d'une exposition chronique à faibles doses*.

³⁰ Safia Costes, *L'exposition chronique à de faibles doses de pesticides via l'alimentation*.

qualifier l'apport de ces « voies de toxicité » dans la mise en œuvre de la méthodologie recommandée par l'ECHA/EFSA pour l'identification des propriétés PE³¹.

Les modèles

L'étude des perturbateurs endocriniens nécessite de recourir à l'expérimentation animale pour évaluer les effets néfastes tels que les désordres métaboliques dépendant de la communication entre différents organes. Or, cette utilisation classique de modèles de mammifères se heurte à plusieurs limites exposées ici par Davide Degli Esposti³² et Normand Podechard³³ : une recherche concentrée sur les vertébrés d'une part, et une forte pression pour réduire l'usage d'animaux en expérimentation d'autre part.

Considérant que « les évaluateurs de risques sont souvent confrontés à une information fragmentée », Enrico Mombelli présente comme autre méthode alternative à l'expérimentation animale, une approche computationnelle – son objectif étant de « développer un outil informatique gratuit (...) capable de hiérarchiser les substances chimiques en fonction de leur propension à interférer avec ces récepteurs (nucléaires) »³⁴.

S'il est ainsi possible d'évaluer *in silico* ou *in vitro*, l'activité endocrinienne d'une molécule. Néanmoins, observe Mélanie Lagarrigue, « la mise en évidence d'une activité endocrinienne n'est pas suffisante pour comprendre les modes d'action aboutissant à ces effets. »³⁵

La complexité des mécanismes d'action

Les PE peuvent affecter la synthèse, la régulation, le transport ou l'élimination des hormones naturelles³⁶. En se liant de manière subreptice aux récepteurs cellulaires dans les tissus cibles (ex. tissu adipeux) ou des organes comme le foie ou le pancréas, ils peuvent aussi interférer sur le système hormonal, principalement de quatre façons :

- **En imitant** l'action d'une hormone naturelle (en se substituant à elle) et entraîner ainsi la réponse due à cette hormone (effet mimétique ou agoniste) ;
- **En empêchant** l'hormone de se fixer à son récepteur et entraver ainsi la transmission du signal hormonal (effet antagoniste) ;
- **En gênant ou modulant** la régulation des hormones ou de leurs récepteurs ;
- **En perturbant** le transport des hormones dans l'organisme.

³¹ Rémy Beaudouin, *La diminution de la fécondité chez le poisson zèbre*.

³² Davide Degli Esposti, *Dépister les perturbateurs endocriniens en milieux aquatiques*.

³³ Normand Podechard, *Le rôle des perturbateurs endocriniens dans l'apparition et le développement des maladies hépatiques*.

³⁴ Enrico Mombelli, *Identifier les perturbateurs endocriniens par modélisation*.

³⁵ Mélanie Lagarrigue, *Identification des protéines cibles des perturbateurs endocriniens*.

³⁶ Hormone produite par le corps humain, ex. œstrogène, testostérone...

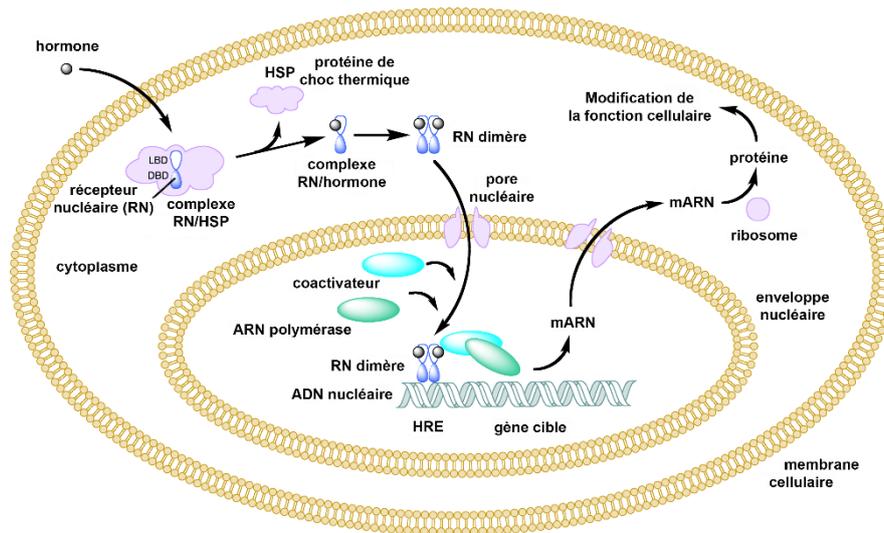


Illustration 7 : Mécanisme d'action général des récepteurs nucléaires
 (Auteur : Boghog2 – Version française : Nathalie Ruaux, Wikimedia Commons)

De plus, il apparaît que les PE peuvent interagir simultanément selon plusieurs de ces mécanismes en utilisant divers récepteurs nucléaires et/ou membranaires ainsi qu'en induisant des modifications épigénétiques modulant le moment et la manière dont les gènes s'expriment dans les tissus cibles sans faire appel à des modifications de l'ADN³⁷.

Peuvent en découler un certain nombre de conséquences délétères pour l'organisme: troubles de la croissance, puberté précoce, malformations congénitales, baisse de la fertilité et de la fécondité, altération des fonctions de reproduction, apparition de certains cancers hormono-dépendants ainsi que des troubles neuro-développementaux. Comme l'explique Anne-Laure Schang, « le développement cérébral (chez l'être humain) est régulé par de nombreux signaux hormonaux, dont ceux des hormones stéroïdiennes et thyroïdiennes (...) À ce jour, les mécanismes de neurotoxicité des PE ont presque été exclusivement étudiés dans les neurones. » Aussi pour compléter les données concernant les effets du bisphénol A (BPA), propose-t-elle de nouvelles approches d'évaluation pour « caractériser les mécanismes cellulaires et moléculaires impliqués dans la toxicité des PE au niveau du cerveau à différentes périodes critiques de son développement »³⁸.

Les pathologies associées aux PE

Parmi les pathologies associées aux PE, beaucoup comme les maladies métaboliques (obésité, diabète), les cancers hormono-dépendants et les troubles de la reproduction sont d'origine multifactorielle (autres facteurs de risques : génétiques, modes de vie...). Il est donc particulièrement difficile d'établir les liens de cause à effet avec un niveau de preuve suffisant. Les modèles classiques de toxicologie ne couvrent pas tous les effets possibles et ne sont pas

³⁷ Ex. méthylation de l'ADN.

³⁸ Anne-Laure Schang, *L'impact du BPA sur les troubles neuro-développementaux*.

totallement adaptés à l'identification des perturbateurs endocriniens. Ces particularités expliquent le besoin d'effort de recherche constant.

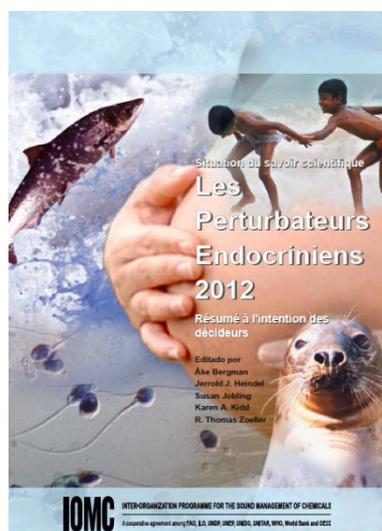


Illustration 8 : Les perturbateurs endocriniens 2012, résumé à l'intention des décideurs, IOMC



Illustration 9 : Évaluation des risques du bisphénol A (BPA) pour la santé humaine, Anses, Édition scientifique, mars 2013

À la suite de la publication historique de l'étude du Programme des Nations Unies pour l'Environnement (PNUE) et de l'Organisation mondiale de la Santé (OMS), D^r Maria Neira³⁹ déclarait en 2013 : « Nous devons mener d'urgence davantage de recherches afin de mieux connaître les conséquences sanitaires et environnementales des perturbateurs endocriniens. » À partir des données disponibles, des études de type « méta-analyse » et des travaux de « revue de la littérature » scientifique ont permis de dégager des tendances en faveur de telle ou telle hypothèse d'effets potentiels de PE sur la santé : hypothèse, qui nécessite ensuite un suivi sur le long terme. Ainsi, l'étude PEPS'PE initiée en 2021 par Santé publique France (SPF) a permis d'identifier parmi 59 effets sanitaires supposés, 21 pathologies avec un niveau de preuve suffisant (cancer du sein, de la prostate, cryptorchidie⁴⁰, altération du sperme, maladies thyroïdiennes auto-immunes...) afin d'élargir la surveillance des effets sanitaires des perturbateurs endocriniens⁴¹.

³⁹ Directrice du Département Santé publique et environnement de l'OMS.

⁴⁰ Absence d'un ou deux testicules dans le scrotum.

⁴¹ Santé publique France, *Vers un élargissement de la surveillance des effets sanitaires des perturbateurs endocriniens*, 28 décembre 2023.

Les effets potentiels sur la santé présentés ci-dessous sont issus de la revue de la littérature de l'étude PEPS'PE, qui classe les effets selon trois niveaux de preuves décroissants : **suffisant**, **plausible** et **insuffisant**. Ces effets ne sont pas à imputer à la seule exposition à des PE et sont, pour la plupart, multifactoriels (autres facteurs de risque : génétiques, mode de vie...).

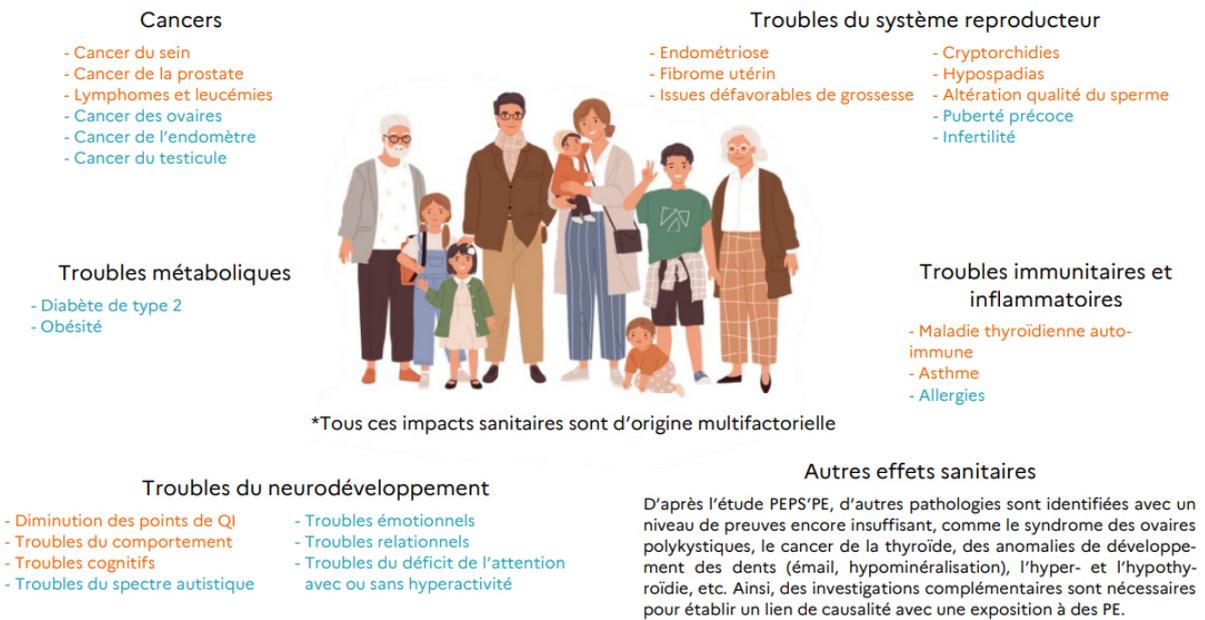


Illustration 10 : Les pathologies associées aux perturbateurs endocriniens, outil à destination des praticiens
(Source : Ministère de la santé et de la prévention, Anses et Santé publique France)

En plus des études chez l'animal (considérées isolément), des tests de toxicité, des modélisations et des études cas-témoin, il importe de pouvoir suivre les effets sanitaires des PE sur le long terme, voire sur plusieurs générations. Ce qui s'avère long, difficile et coûteux.

Le projet « ExPEC-TEEN » présenté ici par Cécile Chevrier s'appuie ainsi sur deux cohortes mère-enfant⁴² pour caractériser les effets de l'exposition prénatale aux PE (plus de 40 composés chimiques) sur la santé des adolescents. De leur côté, Annabelle Bédard s'appuie sur la cohorte couple-enfant SEPAGES pour clarifier l'impact des PE *via* l'alimentation sur la santé respiratoire des enfants⁴³ et Francesca Romana Mancini sur la cohorte SEPIC-Europe⁴⁴ pour investiguer, de manière originale, les effets chroniques des contaminants alimentaires sur la santé (obésité, diabète de type 2, cancer du sein) et la surmortalité dans dix pays d'Europe occidentale⁴⁵. Chacune de ces études épidémiologiques permettront d'apporter de nouveaux éléments de compréhension et de renforcer les connaissances.

⁴² Pélagie et INMA-Sabadell, Cécile Chevrier.

⁴³ Annabelle Bédard, *L'alimentation source d'exposition précoce aux perturbateurs endocriniens*.

⁴⁴ Francesca Romana Mancini, *L'exposition alimentaire aux polluants organiques persistants*.

⁴⁵ Danemark, France, Allemagne, Grèce, Italie, Pays-Bas, Norvège, Espagne, Suède et Royaume-Uni.

L'exposition alimentaire aux polluants organiques persistants

Exposition alimentaire aux perturbateurs endocriniens, individuellement et en mélanges, et le risque d'obésité, diabète de type 2, cancer du sein et la mortalité : première étude européenne

Francesca Romana MANCINI, Inserm, Gustave Roussy, U1018 "Exposome et hérédité" - Villejuif

Équipe partenaire : Inge Huybrechts, Centre International de Recherche sur le Cancer – Lyon

Projet de recherche (en cours depuis 2021 – durée : 36 mois) – Financement Itmo Cancer : 199 772 € – Contact : Francesca.MANCINI@gustaveroussy.fr

Mots-clés : exposition, alimentation, nutrition, produit chimique, obésité, cancer, sein, diabète, mortalité, cohorte, chaîne alimentaire, dioxine, pesticide, composé organochloré, mélange, perturbateur endocrinien, PCB, polychlorobiphényles, hydrocarbures aromatiques polycycliques, polluant organique persistant, retardateur flamme

Les polluants organiques persistants (POP) représentent une menace pour la santé humaine et l'environnement à l'échelle mondiale, y compris dans les régions où ils n'ont été ni produits ni utilisés (en Arctique par exemple). Ces substances ou composés chimiques possèdent quatre propriétés en commun ; ils sont persistants, bioaccumulables, toxiques et mobiles c'est-à-dire qu'ils peuvent être transportés sur de très longues distances. Bien que leur production et leur utilisation soient restreintes dans l'Union européenne⁴⁶, les POP subsistent dans l'environnement et peuvent s'accumuler dans la chaîne alimentaire.

Des exemples de POP

Ces substances comprennent notamment les dioxines, les biphényles polychlorés (PCB), les hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAP), les substances per- et

polyfluoroalkylées (PFAS), les retardateurs de flamme bromés (BFR) et les pesticides organochlorés.

Les PCB ont été principalement utilisés, de 1929 à 1979, dans les équipements électriques (ex. condensateurs, transformateurs) en raison de leurs qualités d'isolation, de lubrification et d'inflammabilité. Certains étaient utilisés aussi dans des applications ouvertes comme les peintures en raison de leur étanchéité. Peu solubles dans l'eau, ils sont très toxiques pour les organismes aquatiques et peuvent s'accumuler tout le long de la chaîne alimentaire. Ils sont classés par le CIRC comme « cancérogènes pour les humains ».

Les pesticides organochlorés sont des composés organiques de synthèse, dérivés du chlore. Parmi les plus connus, le DDT a été utilisé avec beaucoup de succès, aussi bien militairement que civilement, pour neutraliser des épidémies de typhus pendant la Seconde Guerre mondiale et lutter contre les moustiques vecteurs du paludisme. Mais, il va se révéler plus nocif que prévu en raison de sa persistance dans les sols. Comme le chlordane et le chlordécone, il est classé comme « probablement cancérogène pour l'homme ».

Les dioxines sont produites de manière non intentionnelle lors de la combustion à l'air libre ou de l'incinération des déchets. Après avoir pénétré dans les organismes, elles peuvent être absorbées et stockées dans les tissus adipeux. Une des principales voies d'exposition à la dioxine passe par l'alimentation des animaux. La dioxine la plus toxique, la TCDD ou « dioxine de Seveso », a été classée comme « cancérogène certain pour l'homme ».

Les HAP proviennent de la combustion incomplète de matières organiques (ex. charbon, bois, carburants, tabac). Ce sont des polluants atmosphériques qui contaminent

⁴⁶ Le protocole d'Aarhus de 1998, la convention de Stockholm de 2001 et le règlement CE No 850/2004 (ou règlement POP).

souvent les cultures ; ils peuvent se former aussi dans les aliments pendant la cuisson (ex. grill, barbecue, processus de fumage). L'un des plus connus, le benzo(a)pyrène a été classé comme « cancérigène certain » par le CIRC tandis que le benzo(a)anthracène, le benzo(b)fluoranthène et le chrysène sont considérés comme des « cancérigènes probables pour l'homme ».

Les PFAS ont de nombreuses propriétés utiles : antiadhésives, imperméabilisantes et résistantes à la chaleur. On les retrouve, par exemple, dans les textiles, les emballages alimentaires, les cosmétiques et les produits phytosanitaires. Elles se dégradent très peu dans l'environnement et font l'objet de nombreuses préoccupations.

Les BFR sont des composés bromés utilisés comme retardateurs de flamme dans de nombreux matériaux qui les relarguent ensuite dans l'environnement : air, eau, sol. Ils peuvent ainsi entrer dans la chaîne alimentaire, notamment dans les aliments d'origine animale (ex. poisson, viande, lait).

Un nombre croissant d'études établissent un lien entre les PE (notamment les POP) et la progression alarmante des maladies métaboliques.

L'augmentation des maladies métaboliques

Selon un rapport publié par OMS, environ 60 % des adultes et 1 enfant sur 3 souffrent de surpoids et d'obésité en Europe au point d'évoquer une « épidémie ». Bien que des actions de prévention aient été mises en place (ex. vigilance, hygiène de vie, diététique), elles ne suffisent pas à inverser la tendance. D'où la nécessité de s'interroger aussi sur d'éventuels déterminants environnementaux.

Il en est de même pour le diabète de type 2 (maladie provoquée par une hyperglycémie chronique) dont la prévalence a beaucoup augmenté ces

dernières années ; estimée à 4,7% dans le monde en 1980, elle a atteint 8,8% en 2017. Ce qui représente 64 millions de personnes en Europe, dont 3,3 millions en France. L'attention s'est tournée là aussi vers la pollution chimique et ses effets potentiels de perturbation endocrinienne.

Le projet de recherche : PopsDim

Étant donné l'omniprésence des POP et le rôle indéniable joué par l'alimentation dans l'exposition de la population générale, il est urgent d'investiguer les effets chroniques de ces contaminants alimentaires sur la santé. L'objectif de ce projet de recherche est d'étudier la relation entre l'exposition alimentaire aux POP (seul ou en mélange) et le risque de développer des maladies métaboliques (obésité et diabète de type 2), de cancers du sein et de surmortalité dans la cohorte européenne EPIC.



Illustration 11 : Cohorte européenne EPIC
(<https://epic.iarc.fr/>)

Initiée dans les années 1990, EPIC-Europe est une cohorte prospective qui permet d'étudier à grande échelle les relations entre l'alimentation, la nutrition, le mode de vie et les facteurs environnementaux, ainsi que l'incidence de cancers et d'autres maladies chroniques. Plus d'un demi-million de participants⁴⁷ ont ainsi été recrutés dans dix pays d'Europe occidentale⁴⁸ en trente ans. PopsDim est le premier projet d'ampleur qui se concentre sur l'impact de l'exposition alimentaire aux POP à partir des bases de données disponibles.

⁴⁷ 521 448 participants âgés de 25 à 70 ans recrutés entre 1992 et 2000.

⁴⁸ Danemark, France, Allemagne, Grèce, Italie, Pays-Bas, Norvège, Espagne, Suède et Royaume-Uni.

Résultats préliminaires

Les résultats obtenus jusqu'au présent dans le cadre du projet POPsDim ont permis de mettre en évidence des associations non linéaires entre les apports alimentaires en dioxines, PCB dioxin-like (DL-PCB) et PCB non-dioxin-like (NDL-PCB) et le risque de mortalité toutes causes, de mortalité par cancers et de mortalité cardiovasculaire. Un apport modéré était associé à un risque de mortalité plus faible par rapport aux participants les moins exposés.

Toujours dans le cadre du projet POPsDim, nous avons étudié l'association entre l'exposition alimentaire à de multiples HAP, considérés individuellement et en groupe, et le risque de cancer du sein dans la cohorte EPIC. Les résultats suggèrent une absence d'association entre l'exposition alimentaire aux HAP et le risque de cancer du sein.

En fin, nous avons analysé l'association entre l'exposition alimentaire aux PCB et aux dioxines et le risque de développer un diabète de type 2 dans la cohorte EPIC. Bien que nos résultats n'aient pas mis en évidence d'association entre l'exposition alimentaire aux dioxines et aux DL-PCB et le risque de diabète de type 2, ils ont montré une association positive, linéaire et statistiquement significative entre l'exposition alimentaire aux NDL-PCB et le risque diabète de type 2.

Les effets combinés de la malbouffe et des perturbateurs endocriniens

Malbouffe, contaminants environnementaux et santé reproductive : effets de l'exposition combinée à un régime obésogène et aux phtalates sur le contrôle central de la reproduction chez les souris adultes mâles et femelles

Hélène HARDIN-POUZET, Sorbonne Université, Neurosciences Paris Seine (NPS lab) - Paris

Projet de recherche (en cours depuis 2022 – durée : 36 mois) – Financement : 199 742 € – Contact : helene.pouzet@sorbonne-universite.fr

Mots-clés : reproduction, phtalate, métabolisme, obésité, diabète, fertilité, alimentation, souris, perturbateur endocrinien, matière plastique, maladie métabolique, organe reproducteur, exposition multiple

Les études épidémiologiques concernant l'évolution de la santé dans les pays occidentaux montrent une augmentation continue du poids et des maladies métaboliques conduisant à la pandémie actuelle d'obésité et de diabète de type 2 (DT2). D'une part, les habitudes alimentaires ont changé avec les révolutions agricoles et industrielles du XX^e siècle : l'apport calorique et la proportion de lipides sont plus élevés tandis que la part des glucides complexes a diminué. D'autre part, une proportion plus importante d'aliments est fabriquée de manière industrielle et se trouve contaminée par des polluants environnementaux ou provenant des procédés de fabrication.

Les études montrent aussi une augmentation de l'incidence d'autres pathologies au cours du XX^e siècle, et notamment des pathologies reproductives, incluant des malformations du système reproducteur, une baisse de la fertilité et des altérations du comportement reproducteur. Ce déclin de la santé reproductive coïncide avec une multiplication par 20 de l'utilisation de produits chimiques, et notamment de plastifiants, depuis la fin de la

seconde Guerre mondiale. Certains de ces plastifiants sont des perturbateurs endocriniens (PE), et à ce titre, impactent la physiologie des organismes qui y sont exposés.

L'exposition aux phtalates

Dans les procédés de fabrication des plastiques, les phtalates sont utilisés pour leur apporter de la flexibilité et entrent donc dans la composition d'une large gamme de produits de consommation. Ils ne sont pas liés de manière covalente à leur matrice polymère et sont ainsi facilement dispersés dans l'environnement qu'ils contaminent. Même si leur demi-vie biologique est courte⁴⁹ (moins de 24h), l'exposition à ces substances est donc chronique et répétée.

Les phtalates ont été identifiés comme perturbateurs endocriniens et reprotoxiques. Ils présentent des effets anti-androgéniques (diminution de la production de testostérone foétale) conduisant à des malformations des organes reproducteurs mâles et, chez la femelle, ils sont à l'origine, par exemple, d'une diminution de la production des hormones sexuelles. En outre, l'exposition aux phtalates a des conséquences sur le comportement reproducteur. Ainsi nous avons montré que l'exposition orale de souris adultes mâles et femelles au DEHP⁵⁰ à faibles doses, seul ou intégré à un mélange de phtalates représentatif de la contamination environnementale, altère le comportement reproducteur pour les deux sexes avec une vulnérabilité plus élevée des femelles par rapport aux mâles. Ces altérations du comportement sont liées, au moins en partie, à la diminution de l'expression des récepteurs des androgènes et de la progestérone, respectivement chez les mâles et les femelles, dans les régions cérébrales impliquées dans le contrôle de ces comportements. De plus, une altération de la fonction cérébro-vasculaire pourrait s'ajouter à ces perturbations de la

signalisation hormonale, mâle et femelle, et contribuer à aggraver les effets de la contamination environnementale par les phtalates sur les comportements reproducteurs.



Illustration 12 : La malbouffe (Crédits : iStockphoto)

Métabolisme et reproduction

La perturbation endocrinienne a également été suggérée comme l'une des causes de l'augmentation de l'incidence de l'obésité et de la pandémie de DT2 auxquelles les sociétés occidentales sont confrontées. En effet, si le déséquilibre entre l'apport calorique et la dépense énergétique a longtemps été considéré comme la principale cause de l'obésité, il est maintenant suggéré que ce modèle lié au bilan énergétique n'est pas une explication suffisante. À la fois pour l'espèce humaine et sur des modèles animaux, il a été montré notamment que l'exposition aux phtalates contribuent à la prise de poids, à la résistance à l'insuline et au diabète en interférant avec la biologie des adipocytes⁵¹ et le métabolisme du glucose⁵². Les liens étroits existant entre métabolisme et reproduction suggèrent que les PE, en agissant conjointement sur les deux fonctions, pourraient être à l'origine d'un cercle vicieux aggravant les dérégulations.

⁴⁹ Ils ne persistent pas dans l'organisme.

⁵⁰ DEHP = Di(2-ethylhexyl) phtalate, principal phtalate retrouvé dans l'environnement.

⁵¹ Cellules présentes dans le tissu adipeux.

⁵² Via les récepteurs PPAR et le stress oxydatif.

Cependant, bien que ce soit une des caractéristiques du mode de vie occidental actuel, très peu d'études ont analysé l'effet combiné de la transition alimentaire et des changements de comportement de consommation associés à une exposition chronique aux PE

Le projet de recherche : ReprObesED

Dans ce contexte, notre projet vise à explorer l'effet d'un régime obésodiabéto-gène associé à une exposition aux phtalates à des doses environnementales. Il permettra de faire émerger de nouvelles hypothèses concernant l'origine des altérations de la santé reproductive en combinant ces deux facteurs de l'exposome : régime alimentaire et exposition aux polluants chimiques.

Méthodologie

Pour conduire ce travail, nous avons construit un modèle murin adulte où les souris, mâles ou femelles, sont nourries avec un régime riche en graisse et en sucre (régime « *high fat-high fructose* » : HFHF) qui conduit dès 12 semaines à des altérations métaboliques mimant le diabète de type 2 (obésité, hyperglycémie, résistance à l'insuline). Ce régime alimentaire est combiné avec un mélange de phtalates représentatif de la contamination présente dans l'environnement et à laquelle l'espèce humaine est exposée de manière chronique. Lorsque le désordre métabolique est installé, le comportement reproducteur des souris est analysé ainsi que leur mobilité et leur préférence olfactive pour les partenaires de sexe opposé. Enfin, les cerveaux sont prélevés et l'expression des protéines et des ARNm est analysé dans les noyaux hypothalamiques contrôlant les comportements de reproduction. Egalement, l'intégrité de la barrière hématoencéphalique est examinée.

Résultats préliminaires et travaux en cours

Les résultats préliminaires obtenus avec les cohortes mâles montrent que les souris soumises au régime HFHF et au mélange de phtalates ont une réduction drastique du comportement de reproduction avec un désintérêt pour les femelles. Ces résultats sont spécifiques de l'exposition combinée et ne sont pas retrouvés pour les animaux soumis soit au régime HFHF seul, soit au mélange de phtalates seul. Des analyses moléculaires sont actuellement en cours pour explorer les mécanismes sous-jacents à cette réduction du comportement.

Les cohortes femelles sont également en cours d'étude afin de déterminer s'il existe une sensibilité particulière d'un des sexes à l'exposition combinée.

L'alimentation, source d'exposition précoce aux perturbateurs endocriniens

Exposition précoce aux Perturbateurs Endocriniens via l'Alimentation et santé Respiratoire des enfants

Annabelle BEDARD, CESP Inserm | UMRS 1018 - Villejuif

Équipes partenaires : **Valérie Siroux**, Institut pour l'Avancée des Biosciences, Centre de Recherche UGA/Inserm U 1209/CNRS UMR 5309 - La Tronche - **Sam Bayat**, CHU Grenoble Alpes, Laboratoire d'EFCR - Grenoble

Projet de recherche (en cours depuis 2022 – durée : 36 mois) – Financement : 222 398 € – Contact : annabelle.bedard@inserm.fr

Mots-clés : alimentation, enfant, santé, appareil respiratoire, exposition, exposition maternelle, femme enceinte, grossesse, perturbateur endocrinien, première enfance

Dans les années 1980, l'épidémiologiste David Barker a émis l'hypothèse selon laquelle le développement du fœtus et du jeune enfant a une influence sur le métabolisme et les risques de maladies chroniques qui interviendront plus tard, à l'âge adulte. Cette nouvelle idée a évolué peu à peu vers le concept des origines développementales de la santé et des maladies ou DOHaD⁵³. Ainsi, l'exposition précoce aux perturbateurs endocriniens (PE) pourrait avoir un impact délétère sur la santé respiratoire des enfants.

Les allergies et maladies respiratoires

La fréquence des allergies et maladies respiratoires augmente depuis une trentaine d'années dans les pays industrialisés. En France, 20 à 25% de la population générale souffre d'une maladie allergique – l'asthme

figurant au premier rang des maladies chroniques chez les plus jeunes, affectant 10 à 15 % des enfants. Pour expliquer l'augmentation de cette prévalence, plusieurs hypothèses ont été évoquées : outre les facteurs individuels (ex. susceptibilité génétique), figurent les facteurs environnementaux (ex. climat, pollution atmosphérique) et comportementaux, notamment les habitudes alimentaires.



Illustration 13 : Surpoids et obésité de l'enfant

Les habitudes alimentaires

L'alimentation est une source majeure et modifiable d'exposition à certains PE, dont les phénols, les phtalates et les composés perfluorés (PFAS) qui s'accumulent de façon directe⁵⁴ ou indirecte⁵⁵. Les aliments d'origine animale (ex. bœuf, porc, volaille, fruits de mer) et les produits laitiers (ex. lait, yaourt, beurre) sont les principales sources de phtalates à « haut poids moléculaire », de bisphénol A (BPA), de PFAS et dans une moindre mesure, de phtalates à « faible poids moléculaire ». Ces substances, suspectées d'être reprotoxiques, sont pour certaines déjà très réglementées, tandis que les effets d'autres substances utilisées comme substituts, notamment le bisphénol S et le DINCH⁵⁶ sont encore méconnus. Les PFAS, qualifiés de "polluants éternels", sont des substances extrêmement préoccupantes ; elles sont très résistantes à la dégradation dans

⁵³ De l'anglais, "Developmental origin of health and disease".

⁵⁴ Ex. dans les poissons gras ou les fruits/légumes issus de l'agriculture conventionnelle.

⁵⁵ Via les emballages plastiques, le mode de cuisson, etc.

⁵⁶ Hexahydrophthalate de diisononyle.

l'environnement, très persistantes et très mobiles.

Les habitudes alimentaires pendant la grossesse et la petite enfance sont suspectées d'influencer la santé respiratoire de l'enfant, mais les mécanismes sont méconnus en raison de la complexité de l'alimentation elle-même (source d'aliments et de nutriments dont les effets protecteurs et délétères peuvent interagir) et des différents paramètres pouvant interagir avec ces effets (produits frais issus d'une agriculture conventionnelle ou bio, emballés ou non, transformés ou non...).

Le projet de recherche : PENDALIRE

Jusqu'à présent, les études épidémiologiques se sont focalisées soit sur les associations PE/santé respiratoire, soit sur les associations alimentation/santé respiratoire. L'objectif du projet PENDALIRE est d'étudier l'impact de l'exposition précoce à certains PE *via* l'alimentation sur la santé respiratoire de l'enfant. Son originalité repose sur l'exploration d'une piste nouvelle (l'identification des sources alimentaires d'exposition précoce aux PE et la clarification de leur impact sur la santé respiratoire de l'enfant) qui aidera à déterminer des fenêtres d'exposition critiques (grossesse, petite enfance) et définir de nouvelles recommandations en santé publique.

Methodologie

À partir de la cohorte couple-enfant SEPAGES⁵⁷, 42 échantillons d'urine ont été recueillis chez les femmes enceintes au cours de leur grossesse et 14 pendant la première année de l'enfant pour caractériser l'exposition aux phénols et phtalates. L'exposition aux PFAS a été caractérisée à partir d'échantillons de sérum sanguin des femmes pendant la grossesse. Puis, des mesures non invasives de la fonction

pulmonaire ont été effectuées à 6 semaines, 3 ans et 8 ans chez l'enfant.

Enfin pour évaluer les régimes alimentaires, deux approches complémentaires ont été privilégiées : questionnaires⁵⁸ répétés pour la mère à chaque trimestre de la grossesse et enregistrements alimentaires pour l'enfant.

⁵⁷ Suivi de l'Exposition à la Pollution Atmosphérique durant la Grossesse et Effet sur la Santé : <https://cohorte-sepages.fr/>

⁵⁸ Questionnaire de fréquence alimentaire (FFQ).

Bioaccumulation et effets des perturbateurs endocriniens sur la luzerne et la tomate

Dynamique de 2 perturbateurs endocriniens chez 2 plantes cultivées et évaluation de leurs effets sur un insecte polyphage et la souris

David SIAUSSAT, Sorbonne Université, Institut d'écologie et des Sciences environnementales - Paris

Équipes partenaires : **Sakina Mhaouty-Kodja**, Sorbonne Université, CNRS UMR 8246/INSERM U1130, Neurosciences Paris Seine - **Arnould Savouré**, Sorbonne Université, Faculté de sciences et Ingénierie, iEES, Paris - **David Renault**, Université de Rennes, UMR ECOBIO CNRS 6553, Rennes

Projet de recherche (en cours depuis 2020 – Durée : 40 mois) – Financement : 199 680 € – Contact : david.siaussat@sorbonne-universite.fr

Mots-clés : plante, insecte, exposition multiple, écosystème, agriculture, contamination, protocole, hormone, perturbateur endocrinien, souris, bisphénol A, phtalate, phtalate diéthylhexyde, luzerne, tomate, *Spodoptera littoralis*, *Mus musculus*, métabolite, biomarqueur, stress oxydant, dose faible, mélange

En dépit de la limitation de leurs usages, le di(2-éthylhexyle)phtalate (DEHP) et le bisphénol A (BPA) sont produits en grande quantité et présents dans de nombreux produits industriels⁵⁹. Ces deux substances sont rejetées dans l'environnement et dispersées dans l'air, l'eau et le sol. Elles peuvent être transportées sur de longues distances et potentiellement contaminer les organismes vivants par exposition directe ou par ingestion d'aliments contaminés.

La contamination des sols agricoles

De récentes études révèlent que le DEHP et le BPA peuvent être retrouvés dans les sols agricoles à des concentrations assez élevées, allant de 0,3 à 117 milligrammes par kilo

(mg/kg) pour le DEHP et de 0,7 à 42 microgrammes (µg/kg) pour le BPA. La contamination de ces sols par ces perturbateurs endocriniens (PE) peut avoir différentes origines ; l'eau, qu'elle soit d'arrosage ou de pluie, étant l'une des principales.

L'eau de pluie fait retomber sur le sol ou les parties exposées des plantes (notamment les feuilles) des additifs et intermédiaires entrant dans la composition des plastiques connus pour être des PE. Ces additifs et monomères sont contenus dans les particules atmosphériques. De plus, des publications récentes montrent que le DEHP et le BPA peuvent aussi être retrouvés dans l'eau recyclée ou récupérée. La contamination en PE peut également provenir des plastiques employés par les agriculteurs (ex. serres, bâches) ou les boues des stations d'épuration des eaux usées, utilisées pour fertiliser les sols agricoles.



Illustration 14 : L'impact des perturbateurs endocriniens sur les plantes cultivées

L'impact sur les plantes cultivées

De plus en plus, des études montrent la présence de PE dans les plantes exposées. Plusieurs cas de bioaccumulation ont ainsi été décrits et des niveaux élevés de BPA et de DEHP ont été mesurés après des contaminations par voie racinaire ou foliaire dans différentes parties des plantes cultivées (ex. laitue, tomate, chou, luzerne) au cours de leur développement. Toutefois, force est de constater qu'il y a des

⁵⁹ Restrictions relatives au DEHP dans les jouets et le matériel médical, interdiction de l'usage du BPA dans la

fabrication des biberons en Europe. L'interdiction totale d'utilisation du BPA ne concerne que la France.

différences dans les quantités accumulées par les plantes et leurs capacités à transférer les PE dans (ou depuis) le sol. Ces différences dépendent probablement de leurs caractéristiques physiologique et génétiques, mais n'ont jamais été étudié pour ces molécules.

L'impact des PE sur les insectes herbivores et les animaux mangeurs d'insectes et de plantes

Toutes les données suggèrent que les insectes herbivores comme les ravageurs de cultures et les vertébrés (incluant l'Homme) qui s'alimentent de ces plantes peuvent être à leur tour contaminés par les PE. Cela peut impacter potentiellement toute la chaîne trophique puisque les animaux prédateurs qui s'alimentent des insectes herbivores, peuvent également être contaminés. C'est le cas, par exemple, des souris qui peuvent s'alimenter des végétaux et des insectes.

Rares sont les études concernant les insectes terrestres des écosystèmes agricoles. Pourtant, comme chez les vertébrés, leur développement et leur reproduction sont sous le contrôle du système endocrinien (ex. hormones juvéniles, ecdystéroïdes). Les PE peuvent donc perturber ces processus. Jusqu'à présent, la plupart des études se sont concentrées sur l'impact des PE sur la mouche du vinaigre (*Drosophila melanogaster*). Quant aux ravageurs de cultures, elles se limitent aux résultats obtenus chez le papillon *Sesamia nonagrioides* pour le BPA et chez le ver du cotonnier *Spodoptera littoralis* (insecte polyphage) exposé au BPA et au DEHP. Suite à l'ingestion par des larves de *S. littoralis* d'une nourriture contaminée par l'un de ces deux PE, des perturbations ont été observées dans le comportement sexuel des adultes, leur fécondité et le devenir des œufs de la génération N+1. Même si les modes d'action des PE chez les insectes ne sont pas encore totalement compris, ces éléments n'en

demeurent pas moins des biomarqueurs pertinents d'une perturbation endocrinienne.

Le projet de recherche : PE_AGRO_EVAL

Notre projet consiste à réaliser une étude intégrée multi-niveaux pour mieux comprendre l'impact d'une exposition (seule ou en mélange) au DEHP et au BPA sur deux plantes⁶⁰ (la luzerne et la tomate) et la santé des animaux⁶¹ qui s'en nourrissent.

Comme les sources de contamination sont potentiellement assez nombreuses, nous nous focaliserons sur la contamination véhiculée par l'eau. Nous comparerons la contamination des plantes par voie racinaire et par voie foliaire afin de savoir si ces deux voies de contamination entraînent les mêmes conditions d'exposition pour les niveaux trophiques supérieurs.

Méthodologie

Pour le BPA, nous utiliserons les concentrations de 50ng/L ou 50 µg/L qui correspondent respectivement à des concentrations faible et intermédiaire. En ce qui concerne le DEHP, aucun protocole de contamination chronique avec de l'eau de pluie ou recyclée n'a été entrepris à ce jour ; au regard des mesures observées, nous appliquerons une concentration intermédiaire de 10 µg/L et une concentration faible de 0,5 µg/L pour l'arrosage des sols et la pulvérisation foliaire.

Notre projet vise donc à développer un protocole unique impliquant les trois niveaux trophiques et permettant de faire des expositions chroniques (seules ou en mélange) au DEHP et au BPA aux concentrations environnementales par voies racinaire et foliaire.

⁶⁰ La luzerne (*Medicago sativa* L.) et la tomate (*Solanum lycopersicum* L.).

⁶¹ Le ver du cotonnier (*Spodoptera littoralis*) et la souris (*Mus musculus* souche C57B16/J).

Les effets transgénérationnels des néonicotinoïdes

L'évaluation des effets épigénétiques transgénérationnels potentiellement promus par le néonicotinoïde, thiaclopride, chez la souris mâle

Fatima SMAGULOVA, Université de Rennes, Inserm U1085/ Irset - Rennes

Projet de recherche (en cours depuis 2020 – durée : 36 mois) – Financement : 199 999 € – Contact : fatima.smagulova@univ-rennes1.fr

Mots-clés : néonicotinoïde, perturbateur endocrinien, mécanisme action, épigénétique, appareil reproducteur, prostate, testicule, sperme, thyroïde, hormone thyroïdienne, cellule germinale, apoptose, souris

Conçus pour remplacer les insecticides organophosphorés, les néonicotinoïdes (ou « néonics ») ont été utilisés intensivement dans plus de 120 pays. Ce sont des substances dites « systémiques »⁶² utilisées pour le traitement des semences, des sols et des plantes. Mais, leur utilisation massive en agriculture a suscité de vives inquiétudes : associée au déclin des abeilles et autres pollinisateurs. De plus, les néonics ne peuvent pas être facilement éliminés de sorte que les humains sont exposés à ces substances à chaque fois qu'ils consomment des légumes ou des fruits. Ces éléments ont conduit l'Union européenne à restreindre progressivement leur usage⁶³ tandis que tous les produits à base de néonicotinoïdes sont interdits en France (sauf dérogation) depuis le 1^{er} septembre 2018⁶⁴. Néanmoins, des études ont montré que ces substances étaient persistantes dans les sols pendant des mois, voire des années, et que les composés issus de leur décomposition (métabolites) pouvaient aussi entraîner des effets toxiques.

⁶² C'est-à-dire qu'elles pénètrent à l'intérieur d'un organisme (par ex. dans toutes les parties d'une plante) à titre préventif, curatif ou destructif pour le protéger contre les insectes ravageurs.

Les études chez l'animal

Les néonics ciblent les récepteurs nicotiques de l'acétylcholine (nAChRs) du système nerveux central (SNC) des insectes ; ils ne sont donc pas supposés être toxiques les organismes non-cibles tels que les vertébrés. Cependant, des études suggèrent qu'ils seraient aussi toxiques pour les mammifères, en se liant aux récepteurs nicotiques de type α situés dans les systèmes nerveux central et périphérique. Ils sont aussi une menace pour les oiseaux et les poissons.



Illustration 15 : Le traitement des sols et des plantes

Outre des déficiences immunitaires, ils peuvent entraîner des troubles de la reproduction. Par exemple, des rats exposés par voie orale à l'imidaclopride (dose de 1 mg/kg/jour) pendant 65 jours présentent des anomalies graves dans la morphologie des spermatozoïdes, un déséquilibre des hormones sexuelles et des dommages à l'ADN dans les testicules.

Toxicité des néonicotinoïdes chez l'Homme

Normalement, les néonics et leurs métabolites sont excrétés dans l'urine chez l'Homme. Dans des expériences d'absorption volontaire, il apparaît que 90% de l'imidaclopride sont métabolisés alors qu'une certaine quantité de néonics est excrétée non métabolisée (de 19 à 55%) et la clothianidine est récupérée inchangée. Les effets des néonics sont

⁶³ Trois substances interdites en 2018 (la clothianidine, l'imidaclopride et le thiaméthoxame) et une en 2019 (le thiaclopride).

⁶⁴ Loi No 2016-1087 du 8 août 2016 pour la reconquête de la biodiversité, de la nature et des paysages.

semblable aux effets causés par la nicotine, mais à des concentrations plus élevées : tachycardie, hypertension, maux de tête, étourdissements, douleurs abdominales, diarrhée... Une revue récente de la littérature montre que les enfants nés de femmes enceintes exposées chroniquement aux néonics ont un taux accru d'incidence de tétralogie de malformation cardiaque congénitale (2,4%). De plus, une corrélation entre la présence de métabolites urinaires de l'imidaclopride et des symptômes neurologiques chez des patients a été observée.

Le projet de recherche : Neo F3 2020

Il est de plus en plus clair que les néonics peuvent perturber le système endocrinien, incluant les voies de signalisation hormonale. Secrétées par les glandes endocrines, les hormones agissent tels des messagers qui contrôlent et régulent les activités de tout l'organisme, en se liant de manière sélective aux récepteurs des cellules cibles. Elles sont essentielles, par exemple, pour le bon développement de la grossesse.

Plusieurs études montrent que l'exposition prénatale aux perturbateurs endocriniens (PE)⁶⁵ peuvent avoir des effets délétères non seulement sur le développement du fœtus mais aussi sur la santé du futur enfant ET se transmettre ensuite d'une génération à l'autre.

Lors d'études précédentes, nous avons montré que l'exposition prénatale à l'atrazine (herbicide) et au chlordécone (insecticide organochloré) pouvait interagir sur le développement de la méiose⁶⁶, réduisant le nombre de spermatozoïdes chez les individus issus de la première génération comme ceux de la troisième génération. Dans ce projet, nous souhaitons poursuivre nos efforts en évaluant, pour la première fois, les effets épigénétiques transgénérationnels induits par le thiaclopride (thia) sur le système reproducteur masculin.

Méthodologie

Pour répondre à nos questions, nous avons utilisé un modèle de souris suisse consanguin et des analyses classiques de biologie moléculaire ainsi que des techniques de séquençage à l'échelle du génome.

Nous avons exposé des femelles suisses gestantes au thiaclopride pendant la période critique du développement des cellules germinales, du 6e au 15e jour embryonnaire. Les descendants mâles des souris exposées, appelés génération F1, ont été croisés avec des femelles non traitées pour obtenir la génération F2, et des mâles similaires de la génération F2 ont été croisés à nouveau avec des femelles non traitées pour obtenir la génération F3. Nous avons étudié les mâles des générations F1 et F3 à plusieurs stades de développement, au 15e jour embryonnaire pour révéler les effets sur le développement des cellules germinales.

Trois doses de thiaclopride ont été analysées : (0, 0,6 et 6 mg/kg/jour).

Conclusion

Nous avons montré que l'exposition gestationnelle au thiaclopride entraînait une diminution de la testostérone et du nombre de spermatozoïdes chez les mâles de la troisième génération. De plus, cette exposition gestationnelle a entraîné des modifications de l'expression des gènes dans les testicules embryonnaires et a affecté la méiose chez les adultes. Les modifications de la morphologie des testicules ont été associées à des altérations de la méthylation de l'ADN dans les spermatozoïdes, y compris dans d'importantes régions maîtresses de la régulation. Ces régions seront étudiées dans nos projets futurs.

⁶⁵ À savoir, par exemple, le bisphénol A (BPA) et la vinclozoline.

⁶⁶ Processus de double division cellulaire permettant la formation des cellules reproductrices ou gamètes.

Dépister les perturbateurs endocriniens en milieux aquatiques

Outil intégré pour l'identification et la quantification des perturbateurs endocriniens chez les crustacés

Davide DEGLI ESPOSTI, INRAE, UR Riverly, Laboratoire d'écotoxicologie, Villeurbanne

Équipe partenaire : Miguel SANTOS, University of Porto, Interdisciplinary Centre of Marine and Environmental Research – Matosinhos, Portugal

Etude de faisabilité (en cours depuis 2019 – Durée : 18 mois) – Financement : 41 558 € – Contact : davide.degli-esposti@inrae.fr

Mots-clés : perturbateur endocrinien, insecticide, métabolite, milieu aquatique, faune aquatique, biologie, eau, écotoxicologie, modèle animal, animal sentinelle, crustacé, *Gammarus*, in vitro, séquençage, spectrométrie, bioinformatique

Certains composés chimiques et leurs métabolites, issus des activités anthropiques, contaminent souvent les milieux aquatiques, notamment les eaux de surface. Parmi ces substances, les insecticides sont conçus pour lutter contre une gamme limitée d'insectes, en ciblant leur système endocrinien. Mais ils peuvent aussi avoir des effets indésirables sur des espèces animales non ciblées, y compris l'être humain.

Par mesure de précaution, la directive européenne 2013/39/UE définit les substances prioritaires à surveiller dans le domaine de l'eau, c'est-à-dire « celles qui présentent un risque significatif pour ou via l'environnement aquatique au niveau de l'Union »⁶⁷. Pour identifier les perturbateurs endocriniens (PE), la législation se base sur des tests conduits *in vitro* selon les lignes directrices de l'OCDE sur un petit nombre d'espèces modèles. Le risque est ensuite évalué en fonction du degré

d'exposition des autres animaux ou de l'homme.

Les espèces modèles

La recherche sur les PE se concentre principalement sur les vertébrés. Bien qu'elle soit indispensable pour l'acquisition de premières connaissances, l'utilisation de ces espèces modèles présente des limites. D'une part, les études menées dans des conditions de laboratoire sur des modèles animaux ne permettent pas toujours d'extrapoler et/ou de prédire les effets sur d'autres organismes vivant dans des milieux naturels. D'autre part, il est impossible de tester les effets de tous les composés chimiques et de leurs métabolites sur toutes les espèces et tous les scénarios d'exposition. Un obstacle essentiel est le manque d'outils capables de détecter *in vitro* les effets sur la santé des insecticides les plus récemment introduits sur le marché, tels que les agonistes de l'ecdysone⁶⁸ (ex. dyacil hydrazines, imidazothiazoles).

L'élargissement des données acquises par les technologies émergentes comme le séquençage de nouvelle génération (NGS) à des espèces non modèles telles que les espèces sentinelles offrent de nouvelles perspectives pour l'identification des acteurs des systèmes endocrines de ces espèces et donc l'établissement de nouveaux outils *in vitro* capable d'identifier des nouveaux PE.

Le crustacé *Gammarus fossarum*

Utilisées en écotoxicologie, les espèces sentinelles sont des espèces dont la sensibilité sert d'indicateur précoce des modifications de l'écosystème par des changements au niveau moléculaire, physiologique ou comportemental. Compte tenu de son rôle dans la chaîne alimentaire⁶⁹ et le bon état écologique des rivières, l'amphipode *Gammarus fossarum*

⁶⁷ <https://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=OJ:L:2013:226:0001:0017:FR:PDF>

⁶⁸ Hormone stéroïde qui intervient dans la reproduction et la mue des arthropodes.

⁶⁹ Il se nourrit de matériel détritique ; il est aussi la proie de poissons, d'amphibiens et d'oiseaux.

apparaît comme un choix pertinent, d'autant plus que son système endocrinien (comme celui des arthropodes) est très différent de celui des vertébrés. Il est basé sur différentes voies, dont celles des ecdystéroïdes qui régulent son cycle de reproduction et de mue.



Illustration 16 : Gammarus fossarum (Crédits : Laboratoire d'écotoxicologie, Unité RiverLy, CC-BY)

Le projet de recherche : ThECA

L'objectif principal de ce projet de faisabilité était d'établir une méthodologie rapide pour développer des tests bioanalytiques permettant le dépistage de l'activité perturbatrice endocrinienne des insecticides rejetés dans les milieux aquatiques. Il visait à :

1. Prouver qu'en tirant parti des analyses phylogénétiques et de toutes les données – omiques disponibles sur de multiples espèces, nous pouvons augmenter notre capacité à identifier de manière spécifique les insecticides à partir de leur mode d'action (MoA) ;
2. Établir un test *in vitro* en utilisant le récepteur nucléaire Ecdysone (EcR) des crustacés comme sonde moléculaire pour identifier les insecticides PE et proposer un outil de surveillance de contamination des milieux aquatiques ;
3. Essayer de calibrer ce test à l'aide des marqueurs de toxicité disponibles chez deux espèces de crustacés, l'une d'eau

douce et la deuxième marine (*Gammarus locusta*).

Résultats

Le projet ThECA a permis de développer des tests *in vitro* basés sur des récepteurs nucléaires responsables de la signalisation des hormones stéroïdes chez les gammarus, qui ont des capacités uniques pour lier des insecticides récents (agonistes de l'ecdysone) susceptibles d'induire des perturbations endocriniennes. Ces tests ont été validés à l'aide d'hormones et d'insecticides à base de dyacil hydrazines et pourraient donc être utilisés pour identifier et évaluer les niveaux d'exposition à ces insecticides spécifiques en milieux aquatiques.

Publications :

Ruivo R, Sousa J, Neuparth T, Geffard O, Chaumot A, Castro LFC, Degli-Esposti D, Santos MM. From Extrapolation to Precision Chemical Hazard Assessment: The Ecdysone Receptor Case Study. *Toxics*. 2022, 10 (1), pp.6. <https://doi.org/10.3390/toxics10010006>

La biosurveillance des milieux aquatiques

Caractérisation et identification de perturbateurs endocriniens environnementaux dans les milieux aquatiques : une approche inter-espèces

Selim AIT-AISSA, Ineris, Unité Ecotoxicologie *in vitro* et *in vivo* / UMR-I O2 SEBIO - Verneuil-en-Halatte

Équipes partenaires : **Patrick Balaguer**, Inserm, IRCM-INSERM U1194-ICM, Montpellier - **Hélène Budzinski**, Université de Bordeaux, EPOC/LPTC, Talence

Projet de recherche (en cours depuis 2019 – durée : 36 mois) – Financement : 199 091 € – Contact : selim.ait-aissa@ineris.fr

Mots-clés : biosurveillance, milieu aquatique, perturbateur endocrinien, micropolluant, essai biologique, mécanisme action, récepteur nucléaire, hormone, <i>in vitro</i>
--

Comment identifier les substances émergentes à surveiller dans les milieux aquatiques ?
Comment prioriser celles qui présentent le plus de risques, notamment celles qui ont des activités de perturbation endocrinienne ?
Comment les surveiller efficacement ?

En Europe, la Directive 2000/60/CE établit un cadre pour l'évaluation de la qualité de l'eau⁷⁰ ; elle définit une liste des substances chimiques dangereuses à surveiller en priorité. Bien qu'indispensable, elle ne fournit qu'une vision très partielle de la contamination environnementale en ne ciblant pas, par exemple, les effets des mélanges complexes.

Les bioessais

En complément des analyses chimiques ciblées, les essais biologiques ou bioessais intègrent l'ensemble des substances actives, connues et inconnues (pour une activité biologique

donnée) au sein d'un échantillon, tout en prenant en compte de possibles effets de mélange. Ils sont de plus en plus utilisés en surveillance de l'environnement ; basés sur le mode d'action des substances, ils permettent la détection et la quantification d'activités biologiques associées à la présence de ces substances dans les milieux, comme celle des perturbateurs endocriniens (PE) ayant une activité oestrogénique.

Ces bioessais réalisés *in vitro* sont d'ailleurs pressentis pour intégrer à terme les outils réglementaires d'évaluation de la qualité de l'eau.

Les récepteurs nucléaires

Une grande partie des études menées en biosurveillance environnementale se limitent à l'activité oestrogénique ; elles ciblent principalement les récepteurs des oestrogènes (ER) et, à une moindre échelle, les récepteurs des androgènes (AR) sans tenir compte des autres activités endocriniennes potentielles. Or, d'autres récepteurs nucléaires sont aussi la cible de polluants environnementaux comme les récepteurs des corticoïdes (GR, MR), des progestagènes (PR), des rétinoïdes (RAR α), des xénobiotiques (PXR) ou des proliférateurs des peroxysomes (PPAR γ). Aujourd'hui, il existe un manque d'information sur l'occurrence de ces activités perturbatrices au sein des eaux usées (urbaines et industrielles) ainsi que dans l'environnement en France ; ce qui limite le diagnostic sur l'imprégnation des milieux par les PE.

Les variations inter-espèces

Une autre limitation réside dans le fait que les outils utilisés pour la surveillance environnementale sont basés uniquement sur des modèles cellulaires humains. Si les mécanismes d'action sont proches chez les

⁷⁰ Directive No 2000/60/CE du 23/10/00 établissant un cadre pour une politique communautaire dans le domaine de l'eau.

vertébrés, il existe parfois des variations inter-espèces importantes au niveau des récepteurs et des voies de signalisation intracellulaire qui peuvent conduire à des sensibilités différentes aux PE, voire à des spécificités d'espèces pour certains récepteurs nucléaires. Nous avons observé, par exemple, qu'il existe des différences significatives entre l'humain et le poisson-zèbre pour certains récepteurs nucléaires⁷¹ en réponse à des substances chimiques.

Face à ces constats, il apparaît nécessaire d'améliorer les connaissances sur les PE (autres que les oestrogéno-mimétiques) et les stratégies de biosurveillance qui prennent en compte les variations inter-espèces.



Illustration 17 : Poisson zèbre (*Danio rerio*) femelle (Auteur : Azul, Copyrighted free use)

Le projet de recherche : INDEE

Le projet INDEE s'inscrit dans une démarche d'évaluation de l'imprégnation des milieux aquatiques par les substances PE. Nous proposons de combiner outils biologiques et analyses chimiques pour mettre en oeuvre une stratégie bio-analytique innovante pour :

1. Caractériser de nouvelles activités PE présentes dans les eaux usées urbaines, sources bien identifiées d'émission de PE dans les milieux aquatiques ;
2. Identifier, au sein de ces matrices, des substances ayant une activité

endocrinienne spécifique selon l'espèce (ex. humain vs. poisson zèbre).

Methodologie

Le projet s'articule autour de quatre étapes :

1. Description des sites (eaux usées) et échantillonnage : des campagnes de prélèvements de rejets urbains, sources majeures bien identifiées de PE dans les milieux aquatiques, ont été réalisées en entrée et en sortie de quatre stations d'épurations d'eaux urbaines (STEU) représentatives de différents contextes, à la fois en termes de densité de population que d'activités (domestiques, hôpital, industries) présentes sur les territoires. Une stratégie d'échantillonnage et de préparation (extraction organique) a été définie de sorte à obtenir, en quantité suffisante, un extrait organique commun dédié l'ensemble des analyses chimiques et biologiques.
2. Caractérisation de la contamination des échantillons par les PE (profils des activités PE *in vitro*) à l'aide d'un panel de 22 lignées cellulaires rapportrices d'activités endocriniennes basées sur des récepteurs humains et de poisson zèbre.
3. Identification des substances responsables des activités détectées par une démarche d'analyse dirigée par les effets (EDA) : simplification du mélange complexe par fractionnement RP-HPLC, test et isolement des fractions biologiquement actives et identification chimique par LC-HRMS.

⁷¹ Projet TOXCHEM financé par le PNR EST (2018-95) et dirigé par Patrick Balaguer.

4. Evaluation des effets des substances identifiées chez le poisson zèbre *in vivo*.

Résultats préliminaires

- Toutes les activités investiguées sont retrouvées, à des niveaux variables, en entrée de STEU. Si certaines activités sont bien abattues (e.g. ER, AR, PPARg), d'autres, comme l'activité GR, ne sont que très partiellement abattues en sortie de STEU. L'approche EDA a permis d'identifier deux glucocorticoïdes et des métabolites actifs en sortie de traitement.
- Des différences inter-espèces notables (humain vs poisson zèbre) sont rapportées pour les activités PR, MR, PPARg et PXR. Le fractionnement par RP-HPLC a permis d'isoler les fractions actives spécifiquement sur les récepteurs de poisson zèbre (en cours d'identification).
- Des effets d'un glucocorticoïde chez le poisson zèbre (effets développementaux, perturbation de gènes cibles, effets sur la reproduction) sont observés à des concentrations inférieures au µg/L.

L'exposition des truites à un pesticide, le tébuconazole

Plateforme multi-OMiques haut-dÉbit pour l'anaLyse du stress perturbateur endOcrinien chez le poisson

Claudia COSIO, Université de Reims, UMR-I 02 SEBIO (INERIS/URCA/ULH) - Reims

Équipes partenaires : **Yves St-Pierre**, INRS, Centre Armand-Frappier, Santé Biotechnologie, Laval, Québec - **Morgane Danion**, Anses, Laboratoire Ploufragan/Plouzané/Niort, Plouzané - **Patrick Kestemont**, Université de Namur, Unité de Recherches en Biologie Environnementale et Evolutive, Namur, Belgique - **Isabelle Villena**, CHU et Université de Reims, UFR de Médecine, Laboratoire Parasitologie EA7510, Reims

Projet de recherche (nature de la recherche ex. étude cas-témoins) suivi de la durée (ex. en cours depuis..., de/à) – Financement : 197 817 € – Contact : claudia.cosio@univ-reims.fr

Mots-clés : pesticide, fongicide, perturbateur endocrinien, écotoxicologie, écosystème, faune aquatique, milieu aquatique, poisson, truite <i>Oncorhynchus mykiss</i> , stress, méthodologie, biopsie, biomarqueur, ADN, ARN, inflammation, transcriptome, mort cellulaire, apoptose, nécrose, génome, dose faible, avancée biomédicale
--

En Europe, le règlement REACH⁷² ainsi que les règlements sur les produits pharmaceutiques⁷³ et biocides⁷⁴ exigent que les substances chimiques soient testées pour déterminer leurs effets potentiels de perturbation endocrinienne. Pour le milieu aquatique, les études chez les poissons révèlent des perturbations dues à des déséquilibres hormonaux avec des conséquences néfastes sur le développement et la reproduction. De plus, des manifestations inflammatoires chroniques sont souvent observées, touchant des mécanismes à la base

⁷² Règlement (CE) No 1907/2006 du 18 décembre 2006 du Parlement européen et du Conseil concernant l'enregistrement, l'évaluation et l'autorisation des substances chimiques, ainsi que les restrictions applicables à ces substances (REACH).

⁷³ Règlement (CE) No 1107/2009 du Parlement européen et du Conseil concernant la mise sur le marché des produits phytopharmaceutiques (21 octobre 2009).

⁷⁴ Règlement (UE) No 528/2012 du Parlement européen et du Conseil concernant la mise à disposition sur le marché et l'utilisation des produits biocides (22 mai 2012).

de l'homéostasie (maintien de l'équilibre) et de l'intégrité de l'organisme.

Face à cette multiplicité des effets, des approches multi-marqueurs ont été développées permettant la détection d'atteintes pathologiques sur les grandes fonctions physiologiques des poissons. Malgré leurs intérêts, ces approches présentent des limites⁷⁵ qui rendent difficile l'interprétation des données. Dans le même temps, le nombre de substances chimiques nécessitant un enregistrement⁷⁶ est en constante augmentation. Il est donc nécessaire de développer de nouvelles méthodes afin d'optimiser les procédures d'évaluation et d'améliorer les connaissances sur les modes d'action des perturbateurs endocriniens (PE).

Le concept de biopsies liquides (BL)

Grâce aux récentes avancées dans les techniques de séquençage à haut débit, l'utilisation de biopsies liquides (BL) comme source de biomarqueurs est un concept qui gagne rapidement du terrain dans le domaine biomédical. Prélevé de façon semi-invasive, le sang est un tissu biologique intégrateur de l'état physiopathologique de l'organisme ; sa composition est directement influencée par les stress environnementaux auxquels l'animal est exposé.

Les BL permettent de prendre en compte, simultanément, les impacts des PE sur plusieurs fonctions physiologiques : la fonction endocrinienne liée à la reproduction, la fonction métabolique et la défense immunitaire. Grâce aux avancées dans les technologies de séquençage à haut débit, plusieurs biomarqueurs de nouvelles générations ont été développés à partir de l'analyse des acides nucléiques que l'on retrouve dans une biopsie

liquide. On y retrouve notamment le microbiome circulant, basé sur l'analyse d'ADN d'origine bactérienne provenant des organes de l'hôte ; le transcriptome circulant, qui permet de déterminer les voies métaboliques modulées par les cellules sanguines, et le méthylome circulant, qui permet de déterminer les altérations génétiques provoquées par l'exposition à des stress environnementaux. En analysant simultanément plusieurs couches d'informations biologiques, ces outils offrent une vision holistique et plus précise des réponses complexes de l'hôte face aux défis environnementaux.



Illustration 18 : Truite arc-en-ciel (Auteur : Duane Raver, Domaine public)

Le projet de recherche : POMÉLO

POMÉLO est un projet interdisciplinaire et international de développement d'une approche multi-omique⁷⁷ associant le séquençage haut-débit et la bio-informatique pour l'analyse des effets PE chez le poisson. Il doit permettre des avancées significatives sur l'identification de nouveaux biomarqueurs précoces, sensibles et prédictifs d'effets PE.

Le choix du modèle expérimental se porte sur une espèce bien connue : la truite arc-en-ciel (*Oncorhynchus mykiss*).

Le choix de la substance chimique s'oriente vers une molécule dont les propriétés PE sont particulièrement documentées chez les poissons et pour laquelle il est requis des compléments d'informations écotoxicologiques⁷⁸ : le

⁷⁵ Ex. diversité des protocles d'exposition des poissons, des méthodes de préparation et d'analyse des échantillons.

⁷⁶ Pour leurs autorisations de mise sur le marché (AMM) ou pour le renouvellement de ces autorisations.

⁷⁷ Le terme se réfère ici aux « omes » multiples, incluant le génome, le méthylome, le transcriptome, le bactériome et le virome.

⁷⁸ Démarche de révision en cours de l'AMM (expiration au 31/08/2020).

tébuconazole (TBZ), fongicide utilisé en agriculture (blé, culture des fruits et légumes) et en viticulture.

Méthodologie

Les truites ont été exposées au TBZ à des doses environnementales en conditions chroniques. Cette exposition a été suivie d'un stress infectieux⁷⁹ pour examiner la capacité des poissons contaminés à résister à une infection (challenge viral) et assurer une prise en compte d'effets multi-stress sur les réponses observées.

L'examen des effets de l'infection virale sur les marqueurs d'exposition endocrinienne permet d'évaluer les effets propres au virus et ceux associés aux expositions des poissons aux deux stress, seuls et en combinaison. Le projet cible spécifiquement les acides nucléiques comme traceurs des effets PE.

Les effets potentiels du fluorure de sodium sur la truite arc-en-ciel

Evaluation des effets potentiels du Fluorure de Sodium, substance perturbatrice endocrinienne suspectée, sur le système thyroïdien, l'immunité et le microbiote de la truite arc-en-ciel, *Oncorhynchus mykiss*

Laure BELLEC, Station Marine d'Arcachon, UMR EPOC, Université de Bordeaux

Équipes partenaires : **Morgane Danion**, Anses, Laboratoire Ploufragan/Plouzané/Niort, Plouzané – **Thomas Braunbeck**, Universität Heidelberg, Heidelberg, Allemagne

Projet de recherche (en cours depuis 2022 – durée : 40 mois) – Financement : 200 k€ – Contact : laure.bellec@u-bordeaux.fr

Mots-clés : métabolisme, hormone, thyroïde, animal vertébré, immunité, poisson, truite, écotoxicologie, perturbateur endocrinien, hormone stéroïde sexuelle, hormone thyroïdienne, réponse immunitaire, cytokine, téléostéen, fluorure de sodium, *Oncorhynchus mykiss*, interaction, mécanisme action, fongicide, microbiote, holobionte

Chez les vertébrés, le système hormonal thyroïdien (SHT) joue un rôle essentiel dans la physiologie, le métabolisme et les processus de développement. S'il est perturbé, il peut ainsi affecter les fonctions de nutrition, de croissance et de reproduction des populations, et donc la survie de celles-ci.

Bien que les effets des perturbateurs endocriniens (PE) sur le SHT aient été étudiés, leurs impacts sur le système immunitaire (SI) ont pour le moment été que très peu investigués. Pourtant, les systèmes endocrinien et immunitaire interagissent fortement pour maintenir l'homéostasie du corps dans des conditions environnementales changeantes et orchestrer ses besoins en ressources.

⁷⁹ Infection par le virus de la nécrose hématopoïétique infectieuse (vNHI), agent pathogène qui provoque des

mortalités massives chez une grande variété d'espèces de salmonidés en aquaculture.

L'interaction entre la thyroïde et le système immunitaire

Chez les mammifères, les hormones thyroïdiennes (HT) naturelles⁸⁰ affectent un large éventail de fonctions immunitaires cellulaires, notamment la phagocytose⁸¹, l'explosion oxydative⁸², la chimiotaxie⁸³ ou la synthèse des cytokines⁸⁴. Elles influencent aussi la différenciation et la maturation des cellules immunitaires comme les macrophages et les lymphocytes.

Il existe également des preuves solides de cette interaction parmi les autres classes de vertébrés : chez les oiseaux, les amphibiens et les téléostéens (poissons vertébrés). Chez les poissons, par exemple, l'importance écotoxicologique du lien entre la thyroïde et le SI est illustrée par le fait que des substances comme le BPA ou les PCB ont des effets immunosuppresseurs et que les poissons exposés ont une sensibilité accrue aux agents pathogènes. D'autres éléments biologiques liés fortement au SI peuvent aussi être perturbés par les PE : par exemple, le microbiote.

Le microbiote

De grands projets de recherche⁸⁵ ont mis en évidence l'implication du microbiote (c'est-à-dire l'ensemble des micro-organismes vivants dans un système donné) dans des phénomènes aussi divers que la nutrition, la croissance, la reproduction, le système immunitaire ou la défense face aux agents pathogènes. Ces observations ont fait émerger le concept d'holobionte (association d'un hôte et des

différents microbiotes qu'il héberge) où le microbiome, c'est-à-dire les génomes du microbiote, est dynamique et peut évoluer rapidement suivant les conditions environnementales, influençant l'adaptation, la physiologie et l'évolution de l'hôte.

Sur cette base, certaines maladies humaines ont pu être clairement associées à un déséquilibre du microbiote intestinal – ce dernier ayant, par exemple, une influence sur la disponibilité des micronutriments (ex. iode, fer, cuivre) nécessaires à la synthèse des HT. Les recherches sur le microbiote des poissons restent encore peu nombreuses par rapport aux modèles humains ou rongeurs mais il est accepté que celui-ci est un élément essentiel dans le maintien de leur santé.

Le projet de recherche : SUSPECT

Parmi les seize substances jugées prioritaires par l'Anses⁸⁶ en raison de leur activité endocrine potentielle, le fluorure de sodium (NaF) a attiré notre attention au regard des éléments toxicologiques disponibles. Conformément au concept « One Health » (« une seule santé »), notre projet vise à apporter des éléments de caractérisation des effets potentiels du fluorure de sodium chez un modèle piscicole (la truite arc-en-ciel⁸⁷) en examinant à la fois les effets et les interactions sur le système hormonal thyroïdien, le système immunitaire et le microbiote.

⁸⁰ Triiodothyronine (T3) et thyroxine (T4).

⁸¹ Capacité de certaines cellules (les phagocytes) à ingérer et détruire des particules étrangères de taille variable.

⁸² Libération rapide de dérivés réactifs de l'oxygène.

⁸³ Mouvement non orienté d'une cellule en réponse à un stimulus chimique.

⁸⁴ Les cytokines sont synthétisées principalement par l'organisme en réponse à un signal activateur.

⁸⁵ Par ex. « *Human Microbiome project* » (<https://www.hmpdacc.org/>), « *Earth Microbiome Project* » (<https://earthmicrobiome.org/>), « *Shedd Aquarium Microbiome Project* ».

⁸⁶ Avis de l'Anses, *Elaboration d'une méthodologie d'évaluation du caractère perturbateur endocrinien des substances chimiques* (avril 2021) et *Elaboration d'une liste de substances chimiques d'intérêt en raison de leur activité endocrine potentielle, Méthode d'identification et stratégie de priorisation pour l'évaluation* (avril 2021).

⁸⁷ La truite arc-en-ciel *Oncorhynchus mykiss* est d'un grand intérêt économique ; elle représente un modèle environnemental pertinent proche des espèces endémiques des eaux européennes.

Méthodologie

Le projet « SUSPECT » s’articule autour de plusieurs axes :

- Etude comparative du fluorure de sodium (PE suspecté) et du tébuconazole (PE avéré) sur les premiers stades de développement de la truite arc-en-ciel en ciblant les effets et les interactions sur le triptyque SHT/SI/microbiote après une exposition chronique de 7 mois.
- Caractériser les effets potentiels du NaF sur la santé des poissons à différents stades de vie (embryons, larves et juvéniles) au travers de différents paramètres¹⁰



Illustration 19 : Larve de truite (Auteure : Marine Suchet, Université de Bordeaux)

- Analyser les effets potentiels du NaF au stade juvénile sur l’holobionte en combinant des approches innovantes (métabarcoding, transcriptomique, protéomique)
- Tester la résistance des truites face à une épreuve infectieuse au virus de la nécrose hématoïétique⁸⁸ (vNHI) après une exposition chronique de 7 mois au NaF

Résultats préliminaires

Des résultats préliminaires nous ont permis de valider le dispositif expérimental, notamment sur les concentrations environnementales de NaF à utiliser pour des stades de vie aussi précoces de truite arc-en-ciel.

La phase expérimentale d’exposition chronique a donc pu débuter et nous a déjà permis d’observer des effets significatifs du NaF sur les premiers stades de vie (embryons et larves).

⁸⁸ Maladie qui touche les poissons, notamment les jeunes saumons et les truites.

Le rôle des perturbateurs endocriniens dans l'apparition et le développement des maladies hépatiques

La larve de poisson-zèbre comme modèle d'étude *in vivo* pour évaluer les effets cocktail de perturbateurs endocriniens sur la progression pathologique des NAFLD

Normand PODECHARD, équipe SMS, Inserm, EHESP, Irset, UMR_S 1085, Université Rennes

Équipe partenaire : Michel Samson, équipe 2IFEF, Inserm, EHESP, Irset, UMR_S 1085, Université Rennes

Etude de faisabilité (2019-2023) – Financement : 49 998 € – Contact : norman.podechard@univ-rennes.fr

Mots-clés : pathologies du foie, stéatose hépatique, facteur de risque, maladies métaboliques, effet cocktail, exposition chronique, perturbateur endocrinien, mélange, faible dose, *in vivo*, modèle animal, poisson-zèbre

De plus en plus répandues, les maladies du foie regroupées sous le terme de NAFLD⁸⁹ incluent les atteintes hépatiques, qui vont de la stéatose hépatique⁹⁰ (bénigne et réversible) à la stéatohépatite⁹¹. Cette transition de l'une à l'autre est extrêmement préoccupante puisque cet état du foie peut se compliquer en fibrose et/ou en cirrhose, terrains propices aux cancers hépatocellulaires. Globalement, il est estimé que plus d'un quart de la population est concernée par la stéatose et que jusqu'à 30% de ces personnes vont développer une stéatohépatite.

⁸⁹ De l'anglais, « non-alcoholic fatty liver disease », terme classiquement utilisé mais qui vient d'être remplacé par le terme « MASLD » pour « Metabolic dysfunction-Associated Steatotic Liver Disease ».

⁹⁰ Communément appelée maladie du « foie gras », elle se définit par une accumulation excessive de lipides dans le foie sous la forme de triglycérides.

Les facteurs environnementaux

Au-delà des facteurs métaboliques, génétiques ou nutritionnels, les facteurs environnementaux semblent aussi impliqués : tout particulièrement, l'exposition aux perturbateurs endocriniens (PE). Parmi ces composés chimiques, figurent les perturbateurs dits « métaboliques » capables d'augmenter la susceptibilité aux désordres métaboliques (ex. NAFLD, obésité, diabète). Ainsi, leurs organes cibles sont principalement le foie, le tissu adipeux et le pancréas. Si l'on considère les interactions entre ces organes, on comprend aisément pourquoi l'exposition à ces agents chimiques, seuls ou en mélange, puisse expliquer l'incidence croissante des NAFLD. Une problématique forte se pose par rapport à ces molécules ; si leurs effets perturbateurs sont en partie connus pour chacune d'elles, leurs effets en mélange à de faibles doses sont très peu caractérisés, en particulier sur des populations vulnérables telles que les personnes obèses.

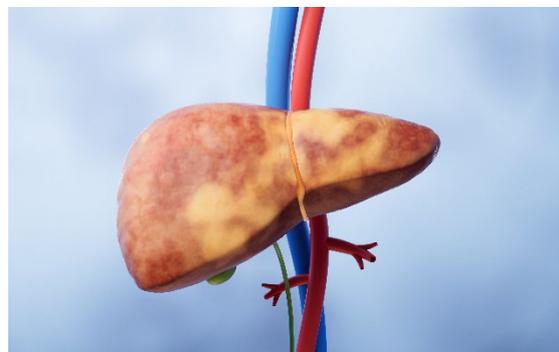


Illustration 20 : Maladie du « foie gras »

L'étude des PE nécessite de recourir à l'expérimentation animale pour évaluer les désordres métaboliques dépendant de la communication entre différents organes alors qu'il existe dans le même temps une forte

⁹¹ Ou « NASH » (« non-alcoholic steatohepatitis ») dont les caractéristiques majeures sont la souffrance et la mort des hépatocytes, accompagnées d'une inflammation du foie.

pression pour réduire l'usage d'animaux en expérimentation. Afin d'éviter l'utilisation massive des modèles de mammifères classiquement employés, il apparaît donc intéressant d'utiliser un modèle moins classique mais tout aussi adapté : la larve de poisson-zèbre (zebrafish).

La larve de poisson-zèbre

Le poisson-zèbre possède de nombreux atouts. Il partage plus de 70% de son génome avec l'être humain et présente une grande similitude physiopathologique. Ces similitudes se perçoivent tout particulièrement au niveau du foie où l'on retrouve les mêmes types cellulaires, des activités métaboliques similaires ainsi que des processus physiopathologiques équivalents, notamment dans le domaine spécifique des NAFLD.

Outre le fait que son utilisation soit moins chère et moins chronophage que pour certains modèles plus évolués (ex. modèles murins), la larve de poisson-zèbre présente des avantages méthodologiques puisqu'elle est, à ce stade, transparente ; ce qui permet d'envisager une large variété de marquages pour l'observation d'organes internes (imagerie à haut débit). D'ailleurs, ces avantages ont déjà été mis à profit dans un test d'imagerie visant à mesurer l'activité oestrogénique de composés chimiques (Essai OCDE n°250 : essai EASZY⁹²). En outre, elle permettrait aussi d'évaluer l'activité des PE sur le foie dans le cadre des NAFLD.

Le projet de recherche : Z-MENACE

Pour caractériser les effets cocktail des PE dans l'apparition et le développement des NAFLD, le projet Z-MENACE propose d'envisager la larve

du poisson-zèbre comme une alternative aux modèles animaux classiquement utilisés *in vivo*.

Méthodologie

Quatre molécules ; une dioxine de Seveso⁹³ (TCDD), deux plastifiants⁹⁴ (BPA et DEHP) et un pesticide⁹⁵ (CBZ) ; ont été sélectionnées sur la base de deux critères importants : 1) être connues, indépendamment les unes des autres, comme des perturbateurs métaboliques ciblant le foie ; 2) être fréquemment retrouvées chez l'être humain, mais à des concentrations plus faibles que celles identifiées indépendamment pour leurs effets de PE ; d'où la question de potentiels effets « cocktail ».

Afin d'évaluer l'intérêt du modèle de larve de poisson-zèbre, celui-ci a été comparé à un modèle murin. Globalement, l'approche expérimentale a été la même dans les deux modèles :

1. Induire une stéatose suite à une alimentation riche en graisse (3 jours pour les larves de poisson contre 3 semaines pour la souris) ;
2. Exposer les animaux au mélange de ces quatre PE (4 jours chez le poisson contre 9 semaines chez la souris) ;
3. Evaluer la progression de la stéatose vers la stéatohépatite (histologie ; RT-qPCR) et comparer la réponse hépatique de ces deux modèles par une approche transcriptomique sans a priori (RNA-seq).

Résultats préliminaires

Dans l'ensemble, les résultats obtenus au cours de ce projet confirment que la larve de zebrafish est un modèle prédictif pour l'évaluation des

⁹² OECD (2021), Essai n° 250: Détection sur des embryons de poisson-zèbre transgénique tg(cyp19a1b:GFP) des perturbateurs endocriniens agissant via les récepteurs des œstrogènes (essai EASZY), Lignes directrices de l'OCDE pour les essais de produits chimiques, Section 2, OECD Publishing, Paris, <https://doi.org/10.1787/cf5871be-fr>.

⁹³ 2,3,7,8-Tétrachlorodibenzo-p-dioxine, molécule classée cancérigène de classe 1 par le CIRC.

⁹⁴ Bisphénol A et phtalate de bis(2-éthylhexyde).

⁹⁵ Carbendazime, biocide et fongicide pour la culture des fruits et légumes. Bien que son utilisation soit interdite en France depuis 2008, il reste utilisé dans plusieurs pays d'Europe.

effets cocktails de PE sur la progression des NAFLD. En outre, les travaux préliminaires suggèrent que le métabolisme du fer notamment au niveau mitochondrial et le remodelage membranaire seraient des altérations précoces participant aux effets des PE et pourraient donc constituer des bio-marqueurs d'intérêt, ce qui reste désormais à évaluer de manière approfondie.

Retombées :

Le modèle de larve de poisson-zèbre mis en place et testé au cours de ce projet a permis de mettre en évidence l'impact d'un mélange de 4 PE dans la progression de la stéatose hépatique ; il a de plus révélé des effets cocktails sur l'expression de plusieurs gènes, en particulier liés au métabolisme du fer, faisant de ceux-ci de potentiels biomarqueurs d'effets ou d'exposition. Lorsque ces travaux seront finalisés et au besoin complétés, ils feront l'objet d'une valorisation à travers de publications dans des revues à comité de lecture.

En outre, les résultats préliminaires obtenus et l'expertise acquise ont d'ores et déjà permis de soutenir des réponses à des appels projets de grande envergure dans le domaine de la recherche sur les effets délétères des PE ; c'est le cas, par exemple, concernant notre participation dans le projet européen Endomix visant à mieux évaluer l'impact des PE en mélange sur la santé et dont les résultats devraient aider à une meilleure réglementation des PE au niveau européen.

Pesticides à manganèse : effets d'une exposition chronique à faibles doses

Perturbations endocriniennes et altérations métaboliques dans le foie et le tissu hématopoïétique induites par l'exposition chronique à de faibles doses d'un pesticide contenant du manganèse

Pascal LOYER, Inserm U1317, Institut NuMeCan - Rennes

Équipes partenaires : **Brigitte Le Magueresse-Battistoni**, CarMeN, Inserm U1060 Inrae 1397, Hôpital Lyon-sud secteur 2, Pierre-Bénite - **Olivier Herault**, Université de Tours, Inserm U1069, N2Cox, Tours

Projet de recherche (en cours depuis 2021 – durée : 36 mois) – Financement : 199 992 € – Contact : pascal.loyer@univ-rennes.fr

Mots-clés : foie, hématopoïèse, métabolisme, pesticide, manèbe, exposition chronique, perturbateur endocrinien, doses faibles, manganèse, mécanismes d'action

Bien qu'ils soient retirés du marché européen, le manèbe⁹⁶ et le mancozèbe⁹⁷ ont été couramment utilisés comme fongicides en agriculture et en jardinage (ex. cultures maraîchères, céréales, arbres fruitiers, vignes). Toutefois, leur usage reste autorisé aux Pays-Bas et dans une grande partie du monde.

Le manèbe et le mancozèbe

Ils appartiennent à une famille de composés organiques, les dithiocarbamates⁹⁸ (EDBC), qui peuvent persister plusieurs semaines dans les sols et dont la solubilité dans l'eau varie en fonction des formulations commerciales. À l'inverse du manèbe interdit en 2017, l'utilisation du mancozèbe (très proche chimiquement) autorisée jusqu'en janvier 2021

⁹⁶ Délai de grâce accordé jusqu'au 30 janvier 2020 pour son utilisation.

⁹⁷ Délai de grâce accordé jusqu'au 4 janvier 2022 pour son utilisation.

⁹⁸ Ils appartiennent plus précisément au sous-groupe des éthylène-bis-dithiocarbamates (EDBC) et se distinguent par des ions métalliques Mn²⁺ et Zn²⁺.

questionne la pertinence et la cohérence des réglementations mises en place. C'était alors l'un des fongicides les plus vendus dans le monde, notamment en France avec 2.000 tonnes utilisées en 2019, appliquées par pulvérisation sur les cultures.

Le risque principal d'exposition professionnelle aux EDBC est l'inhalation. Cependant, la dissémination du produit par le vent à partir de la zone traitée vers des parcelles voisines est posée. L'exposition par voie cutanée, plus rare, peut provoquer des allergies. Leur utilisation intensive peut aussi entraîner une contamination des denrées alimentaires. Selon le rapport de surveillance publié par l'Efsa⁹⁹ en 2017, près de 44% des échantillons d'aliments analysés contenaient des résidus de pesticides¹⁰⁰, incluant des EDBC, ne dépassant généralement pas les limites permises par la législation.

Néanmoins, la dose journalière admissible¹⁰¹ (DJA) établie pour chaque pesticide ne tient pas compte des effets cumulatifs potentiels des mélanges de pesticides ni d'expositions chroniques. D'où la nécessité de réévaluer les seuils théoriques autorisés pour l'ensemble d'entre eux.

L'éthylène thiourée (ETU)

Parmi les produits issus de la dégradation des EDBC, figure le principal métabolite, l'éthylène thiourée (ETU) reconnu comme perturbateur endocrinien¹⁰² interférant dans la synthèse des hormones thyroïdiennes¹⁰³. C'est d'ailleurs ce métabolite qui est recherché dans les urines car il est considéré comme un biomarqueur

spécifique d'exposition des populations aux EDBC.

Si l'ETU est capable d'inhiber la thyroïde peroxydase, plusieurs études *in vivo* ont démontré la toxicité des EDBC au niveau du foie. Lors d'études précédentes évaluant les effets *in vitro* d'un mélange de pesticides fréquemment retrouvé dans l'alimentation humaine¹⁰⁴ (Projets PeNiCa-Cancéropôle Grand-Ouest et Pestifat, PNR-EST, AFB/2019¹⁰⁵, financé par le plan Écophyto), nous avons démontré la toxicité de ce « cocktail » sur des hépatocytes humains. Cette cytotoxicité, restreinte à des cellules capables de métaboliser des xénobiotiques¹⁰⁶, était portée par les EDBC qui contiennent du manganèse (Mn)¹⁰⁷. Les résultats récents de l'étude Pestifat suggèrent que les EDBC à Mn seraient non seulement capable d'aggraver une stéatose *in vitro*, dans les cellules hépatocytaires HepaRG en présence d'acides gras, mais aussi d'altérer la biotransformation des xénobiotiques.

Le projet de recherche : MANGA

Afin de compléter les données toxicologiques obtenues lors de nos précédents travaux, les objectifs du projet MANGA sont de :

- Étudier le développement des embryons de souris, dont les mères (ainsi que les pères) ont été exposées à un fongicide contenant du Mn, le manèbe, en préconception, pendant la gestation et la lactation

⁹⁹ <https://www.efsa.europa.eu/fr/press/news/170411>

¹⁰⁰ Dont plus d'un tiers en contenait au moins quatre.

¹⁰¹ Quantité d'une substance chimique qu'un homme ou un animal peut consommer quotidiennement pendant toute la durée d'une vie sans risque pour la santé.

¹⁰² Cité dans la liste de catégorie 1 de la stratégie communautaire relative aux perturbateurs endocriniens (No Cas 96-45-7).

¹⁰³ Triiodothyronine (T₃) et thyroxine (T₄).

¹⁰⁴ Chlorpyrifos, diméthoate, iprodione, imazalil, diazinon, manèbe, mancozèbe.

¹⁰⁵ Bernard Fromenty. Cocktail de pesticides et stéatose hépatique : Effets d'une exposition chronique à faible

dose d'un cocktail de pesticides sur l'accumulation hépatocyttaire de lipides et le métabolisme des xénobiotiques. *Les cahiers de la Recherche : Santé, Environnement, Travail*, 2021, Les contaminants chimiques seuls ou en mélange, 16, pp.44-45. ([anses-03211753](https://www.anses.fr/fr/system/uploads/attachment_data/file/132117/53))

¹⁰⁶ Molécules étrangères à un organisme, terme souvent utilisé pour les composés synthétiques.

¹⁰⁷ Petitjean K et al. Low concentrations of ethylene bisdithiocarbamate pesticides maneb and mancozeb impair manganese and zinc homeostasis to induce oxidative stress and caspase-dependent apoptosis in human hepatocytes. *Chemosphere*, 2024;346:140535.

- Caractériser les les perturbations endocriniennes et altérations métaboliques induites dans le foie et la moëlle osseuse
- Identifier des mécanismes d'action en modélisant les effets du manèbe, de l'ETU et du Mn dans des modèles *in vitro* de cellules hépatiques.

Ces objectifs s'inscrivent dans le concept émergent des origines développementales de la santé et des maladies (DOHaD) qui propose que l'exposition à des substances nocives, restreinte à une période péri/prénatale, peut avoir un rôle délétère sur la santé des enfants et des adultes.

Méthodologie

Des souris C57Bl/6 mâles et femelles (génération F0) sont exposées au manèbe via l'alimentation (25 mg/kg, dose NOAEL) pendant 7-8 semaines (pré-accouplement, gestation, lactation). Après sevrage, la descendance (génération F1) est mise sous régime obésogène sans manèbe pendant 14 semaines afin d'induire une stéatose. Les analyses des cellules sanguines circulantes et de la moëlle osseuse des souris contrôles et exposées sont réalisées. Des études histologiques, biochimiques sur le plasma et d'expression des gènes hépatiques sont conduites.

Les cellules progénitrices hépatiques HepaRG sont exposées au manèbe, à l'ETU, au MnCl₂ et la combinaison ETU+MnCl₂ afin d'étudier leur impact sur la différenciation hépatocytaire et d'identifier des mécanismes d'action de ces molécules.

Résultats préliminaires

In vivo, l'exposition au manèbe n'a pas impacté le taux de reproduction ni le poids au sevrage. Les femelles de la descendance (F1), exposées via la mère, présentent une masse corporelle réduite sans modification de la prise alimentaire et un rapport masse grasse/masse maigre

significativement inférieure par rapport aux souris non exposées. Ce sont les tissus adipeux (TA) viscéral et sous-cutané mais pas le TA brun qui sont impactés. Le dosage de leptine confirme une moindre expansion du TA en réponse au régime obésogène chez les femelles F1 exposées. Les taux plasmatiques des triglycérides et du cholestérol sont significativement chez les femelles exposées (pas les mâles) que pour les souris témoins. L'analyse du foie chez les femelles exposées montre également un taux moindre de triglycérides en réponse au régime obésogène corrélé à des gouttelettes lipidiques plus petites. Les études moléculaires du foie des femelles non exposées et exposées identifient ~150 gènes différentiellement exprimés, en lien avec la stéatose, la fibrose hépatique et la régulation hormonale. *In vitro*, le manèbe et le Mn, mais pas l'ETU, augmentent la prolifération des cellules hépatiques HepaRG et inhibent fortement leur différenciation hépatocytaire.

L'exposition chronique à de faibles doses de pesticides *via* l'alimentation

Impact d'une exposition chronique à un mélange de faibles doses de pesticides sur l'apparition de la maladie de Parkinson et du diabète de type 2 dans des modèles murins transgéniques, et étude des liens entre ces deux pathologies

Safia COSTES, Institut de Génomique Fonctionnelle, Inserm U1191 - Montpellier

Équipes partenaires : **Thierry Baron**, Anses, Lyon - **Laurence Payrastré**, Inrae, UMR 1331 Toxalim, Toulouse

Projet de recherche (en cours depuis 2021 – durée : 36 mois) – Financement : 199 955 € – Contacts : safia.costes@igf.cnrs.fr

Mots-clés : pesticide, maladie Parkinson, diabète de type 2, modèle animal, souris transgénique, démence Alzheimer, maladie chronique, alimentation, pancréas, métabolisme, insuline, exposition chronique, dose faible, mélange, dose journalière, alpha synucléine, maladie à corps de Lewy, sérine, mécanisme action, molécule, évaluation risque, captane, chlorpyrifos, thiophanate, ziram

Selon l'OMS, le handicap et la mortalité liés à la maladie de Parkinson (MP) augmentent rapidement dans le monde. À l'échelle nationale, environ 175 000 personnes étaient traitées pour cette maladie en 2020, soit une prévalence de 2,3 pour 1 000 habitants¹⁰⁸.

La maladie de Parkinson

La maladie de Parkinson est une maladie neurodégénérative associée à la perte progressive de neurones dopaminergiques du mésencéphale¹⁰⁹ et l'agrégation de la protéine alpha-synucléine. Ces protéines anormalement repliées tendent à se propager dans tout le système nerveux central (SNC). Selon

l'hypothèse de l'anatomo-pathologiste allemand Heiko Braak et de ses collègues, l'alpha-synucléine agrégée se déposerait d'abord dans le système nerveux entérique¹¹⁰, associée à un pathogène neurotrope, avant de progresser vers le SNC. Dans ce sens, l'exposition alimentaire à des substances chimiques neurotoxiques pourrait représenter un tel agent pathogène.

Parmi les facteurs de risque environnementaux de la maladie, figure l'exposition professionnelle à des pesticides de telle sorte que la MP a été inscrite au tableau des maladies professionnelles en régime agricole en France en 2012. Cependant, les facteurs de risque de la maladie en population générale sont encore moins bien connus. D'où la nécessité d'évaluer l'exposition chronique à de faibles doses de pesticides *via* l'alimentation (présence de résidus de pesticides) d'autant plus que de récentes études démontrent un lien entre la toxicité des pesticides et l'autophagie¹¹¹ observée dans différents tissus et organes.

Le lien avec le diabète de type 2 ?

De récentes données épidémiologiques rapportent un risque accru de développer la maladie de Parkinson chez des patients atteints de diabète de type 2 (DT2), suggérant une prédisposition génétique et/ou l'existence de mécanismes communs à ces deux pathologies. Des questions similaires portent aussi sur les liens entre la maladie d'Alzheimer et le DT2, incluant l'hypothèse de facteurs de risques communs, parmi lesquels l'exposition aux pesticides.

En ce qui concerne le DT2, il est important de noter que les cellules bêta pancréatiques sont les seules cellules de l'organisme capables de synthétiser et sécréter l'insuline. Or, au niveau

¹⁰⁸ Données Santé Publique France (mise à jour : 12 avril 2023).

¹⁰⁹ Partie supérieure du tronc cérébral.

¹¹⁰ Système nerveux autonome qui contrôle le système digestif.

¹¹¹ Mécanisme d'élimination des protéines mal formées, des protéines amyloïdogénique (comme l'alpha-synucléine) et des éléments cellulaires endommagés.

moléculaire, l'alpha-synucléine (dont le rôle est central dans le développement de la MP) est aussi exprimée par les cellules bêta pancréatiques et pourrait jouer un rôle délétère sur la sécrétion d'insuline et la survie des cellules.

L'agrégation d'alpha-synucléine dans les cellules beta de patients atteints de synucléinopathie ou de DT2 renforcent l'intérêt d'élucider les mécanismes liant ces deux pathologies.

Le projet de recherche : DEEP

Notre projet envisage l'évaluation de l'exposition alimentaire à un mélange de six pesticides¹¹² (captane¹¹³, boscalide¹¹⁴, chlorpyrifos¹¹⁵, thiaclopride¹¹⁶, thiophanate¹¹⁷ et zirame¹¹⁸) à des doses supposées ne pas exercer individuellement d'effets sur la santé (doses journalières admissibles) chez l'homme, mais rapportées pour induire en mélange un effet obésogène/diabétogène chez la souris conventionnelle (C57Bl/6J) mâle.

Étant donné l'importance de l'autophagie dans l'intégrité des neurones et des cellules bêta ainsi que le rôle des pesticides dans la régulation de l'autophagie, nous émettons également l'hypothèse que le mélange de pesticides proposé dans ce projet altère l'autophagie et contribue donc à l'accumulation délétère d'alpha-synucléines dans les cellules bêta et les neurones.

Méthodologie

Dans ce projet, la lignée de souris transgéniques « humanisées » exprimant l'alpha-synucléine humaine mutée A53T (identifiée dans certains cas génétiques de maladie de Parkinson) sera exposée à l'aliment enrichi avec le mélange de

6 pesticides. Comme dans l'étude déjà réalisée chez la souris conventionnelle, nous utiliserons uniquement des souris mâles afin d'éviter les effets de biais liés à la production variable d'oestrogènes chez les femelles. Ce modèle nous permettra d'évaluer les aspects métaboliques et neuropathologiques.

¹¹² Bien que l'utilisation de certains de ces pesticides soit désormais restreinte, leur utilisation est effective depuis le début des années 2000 et leur présence est toujours détectable dans l'alimentation.

¹¹³ Fongicide.

¹¹⁴ Fongicide SDHI.

¹¹⁵ Insecticide et acaricide.

¹¹⁶ Insecticide organochloré de la classe des néonicotinoïdes.

¹¹⁷ Fongicide.

¹¹⁸ Fongicide.

La diminution de la fécondité chez le poisson zèbre

Inhibition de l'aromatase gonadique et autres chemins de toxicité conduisant à une diminution de la fécondité chez le poisson zèbre : de l'événement initiateur aux impacts sur les populations

Rémy BEAUDOUIN, Ineris, Verneuil-en-Halatte

Équipes partenaires : **Hélène Budzinski**, Université de Bordeaux, Laboratoire EPOC, Equipe LPTC – Physico - et Toxicologie-Chimie de l'environnement, Talence - **Violette Thermes**, Inrae, Laboratoire de Physiologie et génomique des poissons, Rennes - **Frédéric Clément** et **Romain Yvinec**, MUSCA Team, INRIA-INRAE-CNRS (Saclay, France) - **Nathalie Hinfrey** et **Alice James**, Ineris, Verneuil-en-Halatte

Projet de recherche (en cours depuis le 20 nov. 2020)
– Financement : 199 971 € – Contact : remy.beaudouin@ineris.fr

Mots-clés : modèle, gonade, toxicité, dose effet, molécule, toxicologie, système endocrine, hypophyse, perturbateur endocrinien, criblage, faune aquatique, inhibition, aromatase, fécondité, poisson, relation dose réponse, évaluation risque, modèle mathématique, trouble reproduction, hypothalamus, mécanisme action, hormone stéroïde

Certains perturbateurs endocriniens (PE) peuvent conduire, chez des individus, à des concentrations anormales d'hormones stéroïdes circulantes et entraîner des dysfonctionnements de la reproduction et du développement. Comment passer des mesures faites en laboratoire à l'échelle individuelle à l'évaluation des risques pour les populations naturelles composant les écosystèmes ? Comment extrapoler l'évaluation des risques environnementaux des PE à partir de données

de toxicité sub-individuelle (essai *in vitro*, culture cellulaire) ?

Les voies de toxicité (AOP)

Les voies de toxicité, dites chemin de l'effet adverse¹¹⁹ (AOP), permettent de reconstituer les étapes qui ont lieu à différents niveaux de l'organisation biologique (ex. molécules, cellules, organes) entre un événement initiateur au niveau moléculaire et un effet néfaste sur l'organisme, puis les populations naturelles. Fondées sur des connaissances acquises, elles décrivent les interactions moléculaires entre une substance chimique et une cible biologique ainsi que les réactions en chaîne qui peuvent en découler.

Les modèles mathématiques peuvent intégrer différentes échelles biologiques, différents types d'observations et leurs relations. Ces outils permettent ainsi, dans un contexte réglementaire, de mobiliser l'ensemble des connaissances pour préciser l'évaluation des risques¹²⁰. Dans ce but, des modèles mécanistes ont été développés chez le poisson-zèbre à l'Ineris : un modèle de cinétique basé sur la physiologie des organismes (PBK) décrivant le devenir des PE dans l'organisme, un modèle de dynamique des hormones stéroïdiennes prédisant la synthèse de vitellogénine¹²¹ (VTG) et un modèle multi-agents pour simuler la dynamique des populations et sa perturbation due à l'exposition aux PE.

La perturbation du cytochrome P450 arotomase

L'arotomase fait partie de la grande famille des cytochromes P450 ; c'est l'enzyme qui converti

¹¹⁹ De l'anglais, « Adverse Outcome Pathways ».

¹²⁰ Notamment dans le cadre des réglementations de mise sur le marché des produits biocides (No 528/2012/EC) et phytopharmaceutiques (No 1107/2009).

¹²¹ Protéine dite « du jaune d'œuf ».

de manière irréversible les androgènes en œstrogènes. En raison de son lien direct avec la reproduction, sa perturbation au niveau des gonades fait partie des mécanismes d'action PE les plus souvent étudiés. C'est d'ailleurs l'un des rares effets toxiques pour lequel il existe une AOP quantitative développée chez un petit poisson d'eau douce, le « vairon tête-de-boule », puis transposée chez d'autres espèces proches : le poisson-zèbre et le médaka.

Chez le poisson-zèbre, des données originales¹²² ont ainsi été produites pour deux PE d'intérêt environnemental : le prochloraze¹²³, l'imazalil¹²⁴. Des données historiques d'autres PE pourront être utilisées : le clotrimazole¹²⁵ et la noréthindrone¹²⁶. Ces données toxicologiques peuvent être directement utiles pour améliorer l'existant et prédire de manière quantitative les effets néfastes des PE sur la viabilité des populations.

Le projet de recherche : GinFiz

Le projet GinFiz vise à développer et tester de nouvelles méthodes pour caractériser les effets non-intentionnels des produits phytopharmaceutiques sur les populations de poissons, en particulier les impacts résultants d'atteintes du système endocrinien des individus. Il donne l'opportunité de qualifier l'apport d'une AOP quantitative (quantification des liaisons entre les étapes d'une AOP) lors de la mise en œuvre de la méthodologie recommandée par l'ECHA/EFSA pour l'identification des propriétés PE.

¹²² Données de fécondité, de concentration en estradiol et VTG circulantes et d'expression du gène *cyp19a1a*. Nathalie Hinfray. 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. *Les cahiers de la Recherche : Santé, Environnement, Travail*,

Méthodologie

En termes de modélisation, le développement de cette AOP quantitative implique d'adapter quatre modèles différents :

1. La calibration et l'application du modèle PBPK poisson-zèbre aux substances étudiées (prochloraze et imazalil) ;
2. Le perfectionnement du modèle de dynamique des hormones stéroïdiennes¹²⁷ chez le poisson-zèbre ;
3. La transcription du modèle de dynamique des ovocytes au poisson-zèbre ;
4. Le modèle individu-centré de la dynamique de population.

L'étape finale sera d'intégrer l'ensemble de ces modèles dans un cadre informatique unifié. Ces travaux nous offrent l'opportunité de qualifier l'apport d'une qAOP lors de la mise en œuvre de la méthodologie d'évaluation des substances PE proposée par le guide ECHA/EFSA.

Publications :

Lesage M, Thomas M, Pécot T, Ly TK, Hinfray N, Beaudouin R, Neumann M, Lovell-Badge R, Bugeon J, Thermes V. 2023. An end-to-end pipeline based on open source deep learning tools for reliable analysis of complex 3D images of ovaries. *Development*. doi: 10.1242/dev.201185.

Ballif, G., F. Clément, and R. Yvinec. 2022b. Nonlinear compartmental modeling to monitor ovarian follicle population dynamics on the whole lifespan. Submitted.

Tu-Ky Ly, Julie De Oliveira, Karyn Le Menach, Hélène Budzinski, Edith Chadili, Nathalie Hinfray, Rémy Beaudouin. The toxicokinetics of two azole fungicides (prochlorz and imazalil) and its metabolites in fish elucidated by a pbpk model. Submitted

2019, Les perturbateurs endocriniens, 13, pp.26-28. ([anses-02446269](#))

¹²³ Fongicide de la famille des imidazoles.

¹²⁴ Fongicide utilisé dans le traitement de certains fruits et légumes.

¹²⁵ Substance active utilisée dans le traitement des mycoses.

¹²⁶ Médicament progestatif.

¹²⁷ Modèle de l'axe hypothalamus-hypophyse-gonades.

Identification des protéines cibles des perturbateurs endocriniens

Identification de protéines Partenaires de perturbateurs Endocriniens par protéolyse limitée et spectrométrie de masse

Mélanie LAGARRIGUE, Université de Rennes, Irset - Inserm UMR 1085 - Rennes

Étude de faisabilité (en cours depuis 2020) –
Financement : 49 742 € – Contact :
melanie.lagarrigue@univ-rennes.fr

Mots-clés : perturbateur endocrinien, mécanisme d'action, organe cible, méthodologie, protéine, protéolyse, spectrométrie de masse, chlordécone, ligand, protéomique, récepteur oestrogènes, prostate, cancer, étude faisabilité

Des tests validés par l'OCDE permettent d'évaluer l'activité perturbatrice du système endocrinien d'une molécule. Il est ainsi possible d'étudier *in vitro* ou *in vivo* certains effets délétères comme les effets agonistes ou antagonistes sur des récepteurs hormonaux ou sur la synthèse de certaines hormones naturelles. Néanmoins, la mise en évidence d'une activité endocrinienne n'est pas suffisante pour comprendre les mécanismes d'action aboutissant à ces effets. Il est par ailleurs probable que la plupart des perturbateurs endocriniens (PE) impactent tout un ensemble de processus biologiques allant bien au-delà des récepteurs hormonaux. Dans ce contexte, l'identification d'interactions entre une molécule donnée et ses cibles (telles que des protéines) constitue une information essentielle.

Les approches biochimiques

Parmi les approches biochimiques conventionnellement utilisées, la chromatographie d'affinité repose sur la fixation spécifique d'une protéine à un ligand immobilisé. Elle offre l'avantage d'identifier sans *a priori* des protéines cibles de petites molécules dans un mélange complexe. Cependant, l'immobilisation de la molécule étudiée nécessite de la modifier chimiquement,

ce qui engendre un risque de perte de son activité.

Compte-tenu de cette limite, de nouvelles techniques sans modification chimique de la molécule se développent depuis quelques années ; elles reposent sur le principe selon lequel une protéine est stabilisée lorsqu'elle est liée à son ligand. Cette stabilisation peut se traduire par une modification du comportement de la protéine face à la protéolyse, le plus souvent en augmentant sa résistance. Ces approches, basées sur la protéolyse limitée et la spectrométrie de masse, se sont avérées prometteuses pour l'identification de cibles de médicaments ou de substances naturelles, mais leur application à des PE présents dans l'environnement n'a jamais été tentée.

Le projet de recherche : PartEnR

L'objectif du projet PartEnR est de développer et d'évaluer l'intérêt d'une approche rapide d'identification de protéines cibles de PE sans *a priori* et sans modification chimique. Cette technique basée sur la protéolyse limitée et la spectrométrie de masse est accessible à tout laboratoire disposant du matériel standard d'extraction de protéines et d'un accès à une plateforme de protéomique. Elle a été testée sur différents types d'échantillons : des lignées cellulaires, classiquement utilisées pour ce type d'approche mais également sur des tissus animaux.

Méthodologie

L'intérêt de cette méthode a été estimé en utilisant comme PE modèle : le chlordécone, un pesticide anciennement utilisé dans les bananeraies mais responsable d'une pollution environnementale persistante pour encore plusieurs décennies. Nous nous sommes focalisés sur le tissu prostatique en raison de l'association connue entre l'exposition au chlordécone et l'augmentation de l'incidence du cancer de la prostate chez l'Homme.

Résultats préliminaires

Les conditions expérimentales telles que la composition du tampon de lyse et la concentration de protéase ont été optimisées sur un extrait de lignée de cellules mammaires humaines (MCF7). Différentes méthodes de traitement des données de spectrométrie de masse ont également été évaluées. En apportant quelques adaptations, ce protocole a pu ensuite être transposé sur des extraits de tissu prostatique de rat ou humain. Les résultats obtenus avec cette approche ont révélé un comportement différent de plusieurs protéines face à la protéolyse en présence de chlordécone. Parmi elles, la calmoduline est particulièrement intéressante car elle a été identifiée comme cible potentielle du chlordécone dans les prostates de rat et les prostates humaines. Deux articles publiés en 1990 suggèrent effectivement que le chlordécone inhiberait l'activité de la calmoduline et modifierait sa conformation. L'interaction entre le chlordécone et la calmoduline va donc être évaluée par une autre technique (résonance plasmonique de surface ou SPR) afin de valider ou non ce résultat.

Retombées :

Développement d'un outil d'identification de cibles de PE accessible à tout laboratoire équipé du matériel standard d'extraction de protéines et d'un accès à une plateforme de protéomique

Identifier les perturbateurs endocriniens par modélisation

Criblage virtuel des modalités de perturbation du système endocrinien

Enrico MOMBELLI, Ineris, Verneuil-en-Halatte

Équipes partenaires : **Olivier Taboureau**, Université de Paris, UFR Sciences du Vivant, unité de Biologie Fonctionnelle et Adaptative (BFA) UMR 8251 - **Alessandra Roncaglioni**, Instituto di ricerca farmacologica Mario Negri (IRCCS), Milan, Italie

Projet de recherche (en cours depuis 2021 – durée : 36 mois) – Financement : 199 977 € – Contact : enrico.mombelli@ineris.fr

Mots-clés : perturbateur endocrinien, produit chimique, toxicologie, QSAR, QGexAR, criblage, bioinformatique, chimie informatique, biologie informatique, toxicocinétique, modélisation

Le système endocrinien est un ensemble de glandes et de tissus cellulaires (ex. thyroïde, ovaires, testicules) qui sécrètent des hormones et les libèrent ensuite dans le sang. Ces hormones sont des messagers chimiques qui agissent sur différentes fonctions de l'organisme comme la croissance, le développement sexuel, la reproduction, le métabolisme, etc.

D'un point de vue moléculaire certaines protéines cellulaires spécialisées jouent le rôle de récepteur du signal hormonal et elles initient une série de réponses biologiques essentielles pour la régulation du fonctionnement de l'organisme. En interférant avec le mode d'action des hormones, les perturbateurs endocriniens (PE) altèrent le fonctionnement de ce système complexe. Les PE sont notamment connus pour cibler des récepteurs spécifiques, notamment les récepteurs des estrogènes (ER), des androgènes (AR) et des hormones thyroïdes (TR).

Les récepteurs hormonaux

Les récepteurs ER et AR sont essentiels pour les fonctions de reproduction (ex. différenciation sexuelle) tandis que les TR sont impliqués dans la régulation du métabolisme (maintien de l'homéostasie) et jouent un rôle essentiel dans le neurodéveloppement. Le maintien de ces fonctions dépend, à travers les espèces, de la préservation d'un axe majeur : l'axe hypothalamo-pituitaire-gonadique (HPG), c'est-à-dire de la communication entre le cerveau, l'hypophyse et les gonades. Si cet axe est déséquilibré, il peut entraîner de nombreux effets nocifs sur la santé : obésité, diabète, infertilité masculine...

Or, les évaluateurs de risques sont souvent confrontés à une information fragmentée et ne disposent pas d'une vue d'ensemble de la perturbation ER, AR, TR et de la stéroïdogénèse (EATS).

Le projet de recherche : ED-SCREEN

Notre projet ED-SCREEN vise à développer un outil informatique gratuit décrivant les modes d'action des perturbateurs endocriniens sur les récepteurs ER, AR et TR ainsi que sur la stéroïdogénèse – notre objectif étant de fournir un outil *in silico* rapide et fiable, capable de hiérarchiser les substances chimiques en fonction de leur propension à interférer avec les modalités EATS.

Méthodologie

L'idée consiste à rassembler les informations pouvant être obtenues grâce à des approches chémoinformatiques et bio-informatique (deux domaines souvent traités séparément). De plus, ED-SCREEN fournira un profil toxicocinétique (TK) des

substances chimiques dites « d'intérêt » pour aider les décideurs à formuler des hypothèses préliminaires en combinant différentes variables pour pouvoir caractériser leur danger de perturbation endocrinienne et leurs propriétés toxicocinétiques.

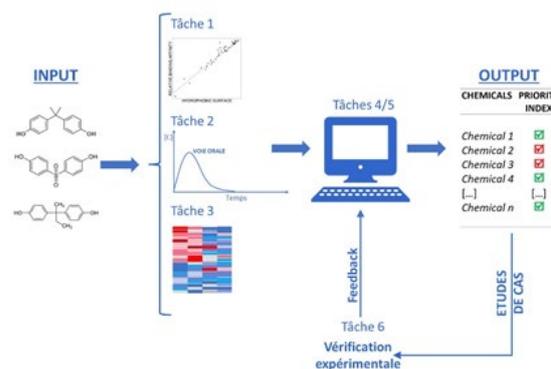


Illustration 21 : La logique du projet ED-SCREEN (T1, QSAR EATS – T2, QSAR toxicocinétique – T3, bio-informatique – T4, intégration QSAR/bio-informatique – T5, programmation outil informatisé – T6, étude de cas)

• La modélisation QSAR

La modélisation QSAR¹²⁸ caractérise les relations qui existent entre structure chimique et activité biologique et elle est un des outils *in silico* du projet. Cette approche de modélisation permet de prédire les effets d'une variation de la structure moléculaire sur une activité biologique d'intérêt. Par exemple, dans le cadre de ce projet, la modélisation QSAR est utilisée pour prédire les affinités entre les substances chimiques et les récepteurs ER, AR ou TR. Cette approche computationnelle se présente comme une méthode alternative à l'expérimentation animale ; elle est de plus en plus utilisée pour des applications industrielles et/ou réglementaires. Dans un cadre réglementaire, la modélisation QSAR

¹²⁸ De l'anglais, « Quantitative Structure Activity Relationship ».

est encadrée par des principes de validation mis à disposition par l'OCDE.

- **Les approches bio-informatiques**

La bio-informatique représente la deuxième discipline de modélisation prise en compte par le projet et elle complète le travail QSAR. En effet, les relations basées sur les mécanismes qui lient le danger chimique avec les phénomènes toxicologiques ne sont généralement pas prises en compte par les approches QSAR.

Les approches bio-informatiques adoptées par le projet se basent sur des modèles de relation qualitative entre l'expression génétique et l'activité biologique (QGexAR). Elles prennent en compte les profils d'expression génique obtenus sur plusieurs lignées cellulaires. Ensuite des algorithmes de classification par apprentissage automatique permettent de développer des modèles prédictifs pouvant identifier les substances chimiques capables de perturber l'expression génique des cellules en fonction de données de transcriptomique.

Résultats préliminaires

Les résultats obtenus lors de la première phase du projet ont permis de rassembler plusieurs modèles QSAR et QGexAR dont l'intégration et synergie permettra de classer les substances en fonction de leur danger de perturbation EATS. Les caractéristiques principales de l'outil informatisé en termes d'interface ont aussi été définies en collaboration avec le comité scientifique consultatif du projet.

L'impact du BPA sur les troubles neuro-développementaux

Neurotoxicité des Perturbateurs Endocriniens : Evaluation de l'impact du bisphénol A sur la myélinisation par une approche lipidomique globale

Anne-Laure SCHANG, Université Paris 5, Faculté de Pharmacie de Paris, UMR 1153 (CRESS) – équipe HERA

Équipes partenaires : **Nicolas Auzeil**, UMR 8038 - C-TAC, Paris - **Pierre Gressens**, Hôpital Robert Debré, Inserm UMR_S1141, Paris

Etude de faisabilité (nov. 2019 – mai 2022) – Financement : 50 000 € – Contact : anne-laure.schang@parisdescartes.fr

Mots-clés : perturbateur endocrinien, bisphénol A, neurotoxicité, toxicité, trouble neurologique, trouble du développement, autisme, hormone, hormone thyroïdienne, hormone stéroïde, cerveau, oligodendrocyte, axone, lipide, myélinisation, mécanisme action, myéline, modèle, <i>in vivo</i> , <i>in vitro</i>
--

Selon la Haute Autorité de Santé, les troubles du neuro-développement (TND) touchent 5% de la population en France, soit environ 35 000 naissances par an. Ils sont en constante augmentation et suscitent d'autant plus d'inquiétudes qu'une relation de cause à effet est envisagée avec les polluants environnementaux. En interférant par exemple avec les voies de signalisation hormonale, les perturbateurs endocriniens (PE) sont suspectés de contribuer à l'apparition et au développement de ces troubles.

Chez l'être humain, le développement cérébral est régulé par de nombreuses hormones, dont les hormones stéroïdiennes et thyroïdiennes pour lesquels des déficits sont clairement mis en cause dans de nombreux troubles neuro-développementaux (TND). Mieux comprendre les mécanismes moléculaires et cellulaires qui régissent les différentes étapes de ce développement est nécessaire pour identifier les mécanismes pathologiques responsables du développement de ces troubles, dont les troubles du spectre autistique (TSA) ou encore

les troubles de l'attention avec ou sans hyperactivité (TDAH).

Le développement cérébral

Les neurones apparaissent très tôt au cours du développement embryonnaire. Ils migrent et se différencient à l'intérieur du cortex cérébral. Puis, ils se connectent entre eux en établissant des points de jonction ou synapses qui concourent à la plasticité cérébrale et leur permettent de transmettre et recevoir de l'information. Le réseau neuronal se développe ainsi en réponse aux stimulations provenant de l'environnement ; les neurones jouent un rôle critique dans de nombreuses fonctions cérébrales telles que l'apprentissage et la mémoire.

À partir du troisième trimestre de la grossesse, les cellules gliales se mettent en place ; elles entourent et protègent les neurones en leur fournissant des nutriments et en éliminant les déchets. Parmi ces cellules, les oligodendrocytes produisent la myéline, une substance blanche qui enveloppe les fibres nerveuses dans le système nerveux central et joue un rôle majeur dans la propagation de l'influx nerveux.

La myéline

La myéline est constituée essentiellement de lipides : 70% de son poids sec. Chez l'Homme comme chez le rongeur, les principales classes de lipides de la myéline sont le cholestérol (30%), les galactocérosides (30%) et les phospholipides (40%). Malgré leur importance, ces lipides sont rarement analysés dans le cadre d'études du neuro-développement, incluant les études de neurotoxicité.

En effet, les lipides sont moins faciles à étudier en routine que les protéines et les acides nucléiques. Or, des modifications qualitatives ou quantitatives de la composition lipidique

cérébrale pourraient refléter plus directement des modifications structurales et/ou fonctionnelles de la myéline.

Le projet de recherche : PE-Lipidom

À ce jour, les mécanismes de neurotoxicité des PE ont presque exclusivement été étudiés dans les neurones. Il existe très peu de données concernant les effets des PE sur les oligodendrocytes et la mise en place de la myéline. Or, ces processus-clés du développement cérébral sont régulés par de multiples signaux hormonaux, qui pourraient être altérés par des PE.

L'objectif principal du projet PE-Lipidom est de mieux caractériser les mécanismes cellulaires et moléculaires impliqués dans la toxicité des PE au niveau du cerveau à différentes périodes critiques de son développement.

Methodologie

Dans ce but, le bisphénol A (BPA) a été choisi comme PE de référence pour trois raisons principales :

1. De nombreuses données sont disponibles concernant le BPA pour développer de nouvelles approches d'évaluation ;
2. Un lien expérimental entre l'exposition précoce au BPA et la myélinisation a été établi chez le rongeur ; l'étude des modifications de la composition lipidique de la myéline devrait permettre de confirmer ce lien et de mieux le caractériser d'un point de vue moléculaire ;
3. Bien que son utilisation soit aujourd'hui réglementée¹²⁹, le BPA reste un contaminant majeur de l'environnement. De plus, les produits de substitution (de structures chimiques très proches) présenteraient une activité PE similaire à

¹²⁹ En France, le BPA a été interdit dans les biberons en 2010, puis dans tous les contenants alimentaires en 2015.

Il est souvent remplacé par les bisphénols F et S, qui semblent néanmoins représenter des perturbations endocriniennes tout aussi actives que celles du BPA.

celle du BPA : d'où la nécessité de poursuivre l'exploration des mécanismes d'action des bisphénols.

Ce projet a permis d'étudier les modifications lipidiques induites par le BPA chez la souris lors de la formation de la myéline, et sur des oligodendrocytes en culture.

Résultats préliminaires

In vitro, le BPA a induit une diminution de la maturation des oligodendrocytes. Chez la souris, l'exposition précoce au BPA a entraîné des modifications transitoires de la composition lipidique de la myéline spécifiquement chez les jeunes femelles. Ces modifications concernent essentiellement les phospholipides. Ce projet a également permis d'identifier des marqueurs lipidiques de la myélinisation (*in vivo*) et de la maturation des oligodendrocytes (*in vitro*). Des analyses complémentaires sont en cours pour mieux caractériser les effets du BPA et son mécanisme d'action.

Publications :

Naffaa V, Magny R, Regazzetti A, Van Steenwinckel J, Gressens P, Laprévotte O, Auzeil N, Schang AL. Shift in phospholipid and fatty acid contents accompanies brain myelination. *Biochimie*. 2022 203:20-31. doi: 10.1016/j.biochi.2022.08.010.

Naffaa V, Hochar I, Lama C, Magny R, Regazzetti A, Gressens P, Laprévotte O, Auzeil N, Schang AL. Bisphenol A Impairs Lipid Remodeling Accompanying Cell Differentiation in the Oligodendroglial Cell Line Oli-Neu. *Molecules*. 2022 31:2274. doi: 10.3390/molecules27072274.

Naffaa V, Laprévotte O, Schang AL. Effects of endocrine disrupting chemicals on myelin development and diseases. *Neurotoxicology*. 2021 83:51-68. doi: 10.1016/j.neuro.2020.12.009. Review.

Les effets de l'exposition prénatale aux PE sur la santé des adolescents

Exposition prénatale aux contaminants environnementaux et santé cardiovasculaire et métabolique de l'adolescent et du jeune adulte

Charline WAREMBOURG et Cécile CHEVRIER, Irset, Inserm UMR 1085, Rennes

Équipes partenaires : **Fabrice Lainé**, CHU Rennes, Service Pharmacologie clinique et biologique, Rennes - **Martine Vrijheid**, ISGlobal, Barcelona, Espagne

Projet de recherche (en cours depuis 2019 – durée : 36 mois) – Financement : 199 864 € – Contacts : charline.warembourg@univ-rennes.fr, cecile.chevrier@univ-rennes.fr

Mots-clés : exposition prénatale, contaminant, composé organochloré, pesticide, phénol, bisphénol A, triclosan, composé perfluoré, composé perfluoroalkylé, obésité, diabète, hypertension artérielle, indicateur, biomarqueur, métabolisme, appareil cardiovasculaire, adolescent

Dans leur environnement quotidien, les femmes enceintes sont exposées à un grand nombre de contaminants chimiques qui peuvent induire des effets sur la santé et le développement de leur futur enfant.

Bien que les polluants organiques persistants soient interdits en Europe depuis plusieurs années¹³⁰, des fréquences de détection élevées pour certains d'entre eux sont observées dans les échantillons biologiques des femmes enceintes en Europe¹³¹. Des inquiétudes demeurent donc sur ces produits ayant des propriétés de perturbation endocrinienne, de reprotoxicité ou de neurotoxicité développementale. D'autres substances telles que les per- et polyfluoroalkyles (PFAS), les

¹³⁰ Règlement (UE) No 2019/1021 du 20/06/19 concernant les polluants organiques persistants.

¹³¹ Haug LS, Sakhi AK, Cequier E, Casas M, Maitre L, Basagana X, Andrusaityte S, Chalkiadaki G, Chatzi L, Coen M, de Bont J, Dedele A, Ferrand J, Grazuleviciene R, Gonzalez JR, Gutzkow KB, Keun H, McEachan R, Meltzer

HM, Petraviciene I, Robinson O, Saulnier PJ, Slama R, Sunyer J, Urquiza J, Vafeiadi M, Wright J, Vrijheid M, Thomsen C. In-utero and childhood chemical exposome in six European mother-child cohorts. *Environ Int*. 2018 Dec;121(Pt 1):751-763. doi: 10.1016/j.envint.2018.09.056. Epub 2018 Oct 14. PMID: 30326459.

phthalates et les phénols (dont le BPA et le triclosan) sont toujours produites dans le monde en grandes quantités ; des études conduites en population générale observent qu'elles sont détectées dans l'ensemble des échantillons biologiques d'enfants et de leurs mères pendant la grossesse.



Illustration 22 : Les polluants environnementaux

Rôle de l'exposition pendant les périodes clés du développement

Selon l'OMS, le nombre de cas d'obésité a presque triplé depuis 1975 à l'échelle mondiale. Or, un corpus solide de données scientifiques suggère que l'exposition prénatale aux perturbateurs endocriniens (PE) pourrait en partie expliquer l'augmentation de cette maladie chronique. Il en va de même pour le diabète de type 2 et l'hypertension artérielle. L'exposition aux PE pendant les périodes clés du développement, comme la période prénatale ou la puberté, pourrait ainsi avoir des conséquences à long terme sur le développement de ces pathologies mais nous connaissons mal ou peu les mécanismes d'action impliqués : dysfonction des tissus adipeux, altération de l'organogenèse, perturbation de la signalisation hormonale ou modifications épigénétiques...

Importance de l'étude des signes précliniques

Les maladies métaboliques et/ou cardiovasculaires apparaissent principalement à

l'âge adulte mais il existe néanmoins des signes précliniques qui permettent de prédire leur survenue dès l'enfance.

À ce jour, les études observationnelles se sont surtout concentrées sur l'indice de masse corporelle¹³² (IMC) pour évaluer les liens possibles entre l'exposition aux PE et la santé cardiometabolique pendant l'enfance. Mais, d'autres indicateurs comme l'indice d'adiposité corporelle, l'accumulation anormale de graisse dans certaines parties du corps (ex. abdomen) ou la mesure du tour de taille apparaissent aussi comme des marqueurs prédictifs de la santé cardiovasculaire et métabolique future. Outre ces mesures anthropométriques (non invasives), des biomarqueurs des modifications du métabolisme peuvent également servir d'indicateurs pronostiques. Ainsi, les niveaux sanguins de cholestérol, d'insuline et de transaminases mesurés pendant l'enfance permettent d'approcher le risque de survenue de la dyslipidémie¹³³, la résistance à l'insuline et les maladies du « foie gras » (NAFLD) à l'âge adulte.

Parmi les fonctions cardiaques et vasculaires, la pression artérielle des enfants et des jeunes adultes peut être utilisée comme marqueur de risque de maladies cardiovasculaires à l'âge adulte. De plus, d'autres marqueurs sont en cours d'investigation telles que la rigidité artérielle et la micro-circulation sanguine qui, chez l'adulte, sont associées à un risque accru d'infarctus du myocarde.

Le projet de recherche : ExPEC-TEEN

L'objectif principal du projet ExPEC-TEEN est d'étudier, dans deux cohortes mères-enfants¹³⁴, les effets possibles de l'exposition prénatale aux PE sur le développement de troubles métaboliques et/ou cardiovasculaires à l'adolescence et chez le jeune adulte. Pour se

¹³² Calcul du poids par rapport à la taille : <https://www.ameli.fr/assure/sante/themes/surpoids-obesite-adulte/calcul-imc-bilan-medical>

¹³³ Cholestérol et/ou triglycérides élevés.

¹³⁴ Cohorte Pélagie : <https://www.pelagie-inserm.fr/> et cohorte espagnole INMA-Sabadell : <https://www.proyectoima.org/>

faire, un nouveau suivi des cohortes est mis en place avec une visite clinique réalisée auprès de professionnels de santé et le recueil d'information par questionnaire sur les habitudes et modes de vie des participants.

Méthodologie

Le projet se décompose en deux étapes :

1. Mesurer les paramètres métaboliques et cardiovasculaires des adolescents et jeunes adultes (14-20 ans) en population générale et décrire les principaux facteurs de risques.
2. Étudier les associations entre l'exposition prénatale à plus de 40 composés chimiques (mesurée par biomarqueurs d'exposition) et les effets sur la santé métabolique et cardiovasculaire des adolescents et des jeunes adultes, à partir de méthodes statistiques avancées permettant d'identifier les mélanges potentiellement impliqués.

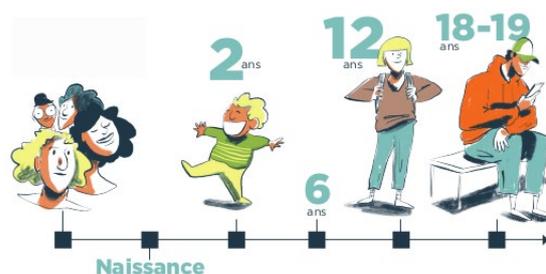


Illustration 23 : Cohorte Pélagie (Auteur : Loïc Gosset)

Résultats préliminaires

A ce stade, le suivi des adolescents de la cohorte espagnole INMA s'est achevé et a permis de suivre 367 enfants âgés de 14-16 ans. Le suivi de la cohorte bretonne Pélagie est toujours en cours et compte déjà près de 200 jeunes de 18-20 ans. La description de la santé cardiometabolique de ces jeunes ainsi que le lien potentiel avec une exposition aux PE pendant la grossesse seront explorés dans les mois à venir.

Publications :

[Rouxel et al. 2023](#) ; DOI:

[10.1016/j.envint.2023.108056](https://doi.org/10.1016/j.envint.2023.108056)

Abréviations utilisées

AhR, De l'anglais, « Aryl hydrocarbon Receptor »

AOP, De l'anglais, « Adverse Outcome Pathways » (parcours de l'effet adverse)

Aviesan, Alliance nationale pour les sciences de la vie et de la santé

AMM, Autorisation de mise sur le marché

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

AR, Récepteur des androgènes

ATZ, Atrazine

BL, Biopsie liquide

BFR, De l'anglais, "Brominated Flame Retardant " (retardateurs de flamme bromés)

BPA, Bisphénol A

CAS, De l'anglais, " Chemical Abstracts Service "

CBZ, Carbendazime

ccfDNA, De l'anglais, « Circulating cell free DNA » (fragments d'ADN libres en circulation)

CD, Chlordécone

CIRC, Centre international de recherche sur le cancer

CMR, Cancérogènes, mutagènes, reprotoxiques

CNRS, Centre national de la recherche scientifique

CYP, Cytochrome P450

DARTS, De l'anglais, « Drug Affinity Responsive Target Stability »

DCE, Directive cadre européenne

DEHP, Phtalate de bis (2-éthylhexyle)

DES, Diéthylstilbestrol

DINCH, Hexahydrophthalate de diisononyle

DJA, Dose journalière admissible

DOHaD, De l'anglais, "Developmental Origin of Health and adult Diseases" (origine développementale de la santé et des maladies)

DT2, Diabète de type 2

DTC, Dithiocarbamates

Ec, Ecdysone

ECHA, De l'anglais, « European Chemicals Agency » (Agence européenne des produits chimiques)

EDBC, Ethylène-bis-dithiocarbamates

EFSA, Autorité européenne de sécurité des aliments

ER, Récepteur des oestrogènes

ETU, Ethylène thiourée

FFQ, De l'anglais, "Food Frequency Questionnaire" (Questionnaire de fréquence alimentaire)

GR, Récepteur des glucocorticoïdes

HAP, Hydrocarbures aromatiques polycycliques

HAS, Haute Autorité de Santé

HCB, Hexachlorobenzène

HFHF, De l'anglais, "high fat-high fructose" (régime alimentaire)

HPG, Axe hypothalamo-pituitaire-gonadique

HT, Hormone thyroïdienne

IMC, Indice de masse corporelle

INCa, Institut national du cancer

Ineris, Institut national de l'environnement industriel et des risques

INRS, Institut National de Recherche et de Sécurité

Inserm, Institut national de la santé et de la recherche médicale

Irset, Institut de recherche en santé, environnement et travail

ISGlobal, Institut de santé globale (Barcelone)

Itmo, Institut thématique multi-organismes

LiP-MS, De l'anglais, « Limited Proteolysis-Mass Spectrometry »

Met, Méthoxyfénozide

MNT, Maladie non transmissible

MoA, De l'anglais, « Modes of Action » (modes d'action)

MP , Maladie de Parkinson	PPAR , De l'anglais, « Peroxisome proliferator-activated receptor »
MR , Récepteur des minéralcorticoïdes	PR , Récepteur de la progésterone
MS , De l'anglais, « Mass Spectrometry » (spectrométrie de masse)	PXR , De l'anglais, « Pregnane X receptor »
nAChRs , De l'anglais, « Nicotinic acetylcholine receptors » (récepteur nicotinique de l'acétylcholine)	Pyr , Pyriproxyfène
NAFLD , De l'anglais, « Non-alcoholic fatty liver diseases » (maladie du "foie gras")	QSAR , De l'anglais, « Quantitative Structure Activity Relationship » (relation quantitative structure activité)
NASH , De l'anglais, « Non-alcoholic statohepatitis »	RAR , Récepteur de l'acide rétinolique
NGS , De l'anglais, « Next-Generation Sequencing » (séquençage de nouvelle génération)	REACH , De l'anglais, "Registration, Evaluation, Authorization and restriction of Chemicals" (règlement de l'Union européenne)
NOAEL , De l'anglais, « No Observed Adverse Effect Level »	RN , Récepteur nucléaire
OC , De l'anglais, « Organochlorine compounds » (composés organochlorés)	SEPAGES , Suivi de l'Exposition à la Pollution Atmosphérique durant la Grossesse et Effet sur la Santé (cohorte)
OCDE , Organisme de coopération et de développement économiques	SDHI , De l'anglais, « succinate dehydrogenase inhibitor" (inhibiteur de la Succinate Déshydrogénase)
OMS , Organisation mondiale de la santé	SHT , Système hormonal thyroïdien
ONG , Organisation non gouvernementale	SI , Système immunitaire
PBPK , De l'anglais, « Physiologically based pharmacokinetic model » (modèle pharmacocinétique physiologique)	SNC , Système nerveux central
PCB , Biphényles polychlorés ou polychlorobiphényles	SNPE , Stratégie nationale sur les perturbateurs endocriniens
PCDD , Polychlorodibenzo-paradiioxines	SPF , Santé publique France
PCDF , Polychlorodibenzo-furanes	SVHC , De l'anglais, "Substances of Very High Concern" (substances extrêmement préoccupantes)
PE , Perturbateur endocrinien	TCDD , 2,3,7,8-Tétrachlorodibenzo-p-dioxine (dioxine de Seveso)
PFAS , De l'anglais, « per- and polyfluorinated compounds » (substances per- et polyfluoroalkylées)	TDAH , Troubles de déficits de l'attention avec ou sans hyperactivité
PFC , De l'anglais, « perfluorinated compound » (composé perfluoré)	TND , Troubles neuro-développementaux
PFOA , De l'anglais, « perfluorooctanoic acid »	TSA , Troubles du spectre autistique
PFOS , De l'anglais, « perfluorooctane sulfonate »	UE , Union européenne
PNR EST , Programme national de recherche en Environnement-Santé-Travail	UMR , Unité mixte de recherche
PNUE , Programme des Nations unies pour l'environnement	vNHI , Virus de la nécrose hématopoïétique
POP , Polluants organiques persistants	VTG , Vitellogénine

Table des illustrations

Illustration 1 : Le système endocrinien (Source : INRS)	4
Illustration 2 : Convention de Stockholm sur les Polluants Organiques Persistants (POP) Erreur ! Signet non défini.	
Illustration 3 : Bioaccumulation, la chaîne trophique des Grands Lacs	Erreur ! Signet non défini.
Illustration 4 : L'exposition aux perturbateurs endocriniens	Erreur ! Signet non défini.
Illustration 5 : Élaboration d'une méthodologie d'évaluation du caractère perturbateur endocrinien des substances chimiques, Anses, Édition scientifique, avril 2021	Erreur ! Signet non défini.
Illustration 6 : Élaboration d'une liste de substances chimiques d'intérêt en raison de leur activité endocrine potentielle, Anses, Édition scientifique, avril 2021	Erreur ! Signet non défini.
Illustration 7 : Mécanisme d'action général des récepteurs nucléaires	Erreur ! Signet non défini.
Illustration 8 : Les perturbateurs endocriniens 2012, résumé à l'intention des décideurs, IOMC Erreur ! Signet non défini.	
Illustration 9 : Évaluation des risques du bisphénol A (BPA) pour la santé humaine, Anses, Édition scientifique, mars 2013	Erreur ! Signet non défini.
Illustration 10 : Les pathologies associées aux perturbateurs endocriniens, outil à destination des praticiens	Erreur ! Signet non défini.
Illustration 11 : Cohorte européenne EPIC (https://epic.iarc.fr/)	18
Illustration 12 : La malbouffe (Crédits : iStockphoto)	20
Illustration 13 : Surpoids et obésité de l'enfant	22
Illustration 14 : L'impact des perturbateurs endocriniens sur les plantes cultivées	24
Illustration 15 : Le traitement des sols et des plantes	26
Illustration 16 : <i>Gammarus fossarum</i> (Crédits : Laboratoire d'écotoxicologie, Unité RiverLy, CC-BY) .	29
Illustration 17 : Poisson zèbre (<i>Danio rerio</i>) femelle (Auteur : Azul, Copyrighted free use)	31
Illustration 18 : Truite arc-en-ciel (Auteur : Duane Raver, Domaine public)	33
Illustration 19 : Larve de truite (Auteure : Marine Suchet, Université de Bordeaux)	36
Illustration 20 : Maladie du « foie gras »	37
Illustration 21 : La logique du projet ED-SCREEN (T1, QSAR EATS – T2, QSAR toxicocinétique – T3, bio-informatique – T4, intégration QSAR/bio-informatique – T5, programmation outil informatisé – T6, étude de cas)	48
Illustration 22 : Les polluants environnementaux	52
Illustration 23 : Cohorte Pélagie (Auteur : Loïc Gosset)	53

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

Selim Ait-Aissa, Ineris, Verneuil-en-Halatte - **Rémy Beaudouin**, Ineris, Verneuil-en-Halatte - **Annabelle Bédard**, UMRS 1018, Villejuif - **Laure Bellec**, Station Marine d'Arcachon - **Cécile Chevrier**, Irset, Rennes - **Claudia Cosio**, UMR-I 02 SEBIO, Université de Reims - **Safia Costes**, Inserm U1191, Montpellier - **Davide Degli Esposti**, INRAE, Villeurbanne - **Hélène Hardin-Pouzet**, Sorbonne Université, Paris - **Mélanie Lagarrigue**, UMR 1085, Rennes - **Pascal Loyer**, Inserm U1317, Rennes - **Francesca Mancini**, Inserm U1018, Villejuif - **Enrico Mombelli**, Ineris, Verneuil-en-Halatte - **Normand Podechard**, UMR_S 1085, Université Rennes - **Anne-Laure Schang**, UMR 1153, Université Paris 5 - **David Siaussat**, Sorbonne Université, Paris - **Fatima Smagulova**, Inserm U1085/Irset, Rennes - **Charline Warembourg**, Irset, Rennes

Remerciements

Nous remercions l'ensemble des contributeurs, et plus particulièrement Fabrice Coutureau-Vicaire, Aurélie Desbrée, Isabelle Domain, Christine Druesne, Laëtitia Dubois, Céline Fernandes, Loïc Gosset, Sophie Guitton, Delphine Lascar, Ivan Le Gallo, Sophie Le Quellec, Flore Mathurin, Lucie Moreels, Anne-Laure Moriaux, Frieda Nguoué, Virginie Sadé, Matthieu Schuler, Marine Suchet

Directeur de la publication

Pr Benoit VALLET (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 !

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.



