



Liberté • Égalité • Fraternité

RÉPUBLIQUE FRANÇAISE

MINISTÈRE DE L'ÉCOLOGIE, DE L'ÉNERGIE,  
DU DÉVELOPPEMENT DURABLE ET DE LA MER  
en charge des Technologies vertes et des Négociations sur le climat

---

## DOSSIER DE PRESSE

---

---

### Programme national de recherche sur les perturbateurs endocriniens

Les apports des recherches conduites entre 2006 et 2009

#### Colloque

Rennes, le 12 avril 2010

---

En savoir plus :

<http://www.pnrpe.fr>

Contacts presse :

Valérie Desgrandchamps – Tél. 06 62 89 51 51 – [vdesgrandchamps@wanadoo.fr](mailto:vdesgrandchamps@wanadoo.fr)

Service de presse du ministère du développement durable : 01 40 81 18 07 [actu@developpement-durable.gouv.fr](mailto:actu@developpement-durable.gouv.fr)

Ressources, territoires, habitats et logement  
Énergie et climat Développement durable  
Prévention des risques Infrastructures, transports et mer

Présent  
pour  
l'avenir

[www.developpement-durable.gouv.fr](http://www.developpement-durable.gouv.fr)

---

# Sommaire

## Contexte général p.3

- ✓ Le système endocrinien p.4
- ✓ Les perturbateurs endocriniens p.4
- ✓ Quelles substances ? p.4
- ✓ Quels effet potentiels sur la santé ? p.4

## Programme national de recherche sur les perturbateurs endocriniens (PNRPE) p.5

- ✓ Les objectifs et l'historique du PRNPE p.5
- ✓ Le PNRPE en chiffres p.5
- ✓ Les instances du PRNPE p.6

## Programme du colloque de Rennes p.7

### Les apports des 7 premiers projets de recherche (2006-2009)

- ✓ L'exposition humaine aux perturbateurs endocriniens et épidémiologie p.7
- ✓ L'impact des perturbateurs endocriniens sur les milieux naturels p.10
- ✓ Les nouveaux outils expérimentaux en appui aux tests réglementaires p.11

## Annexes p.13

- ✓ 2<sup>e</sup> appel à proposition de recherche (2009-2012) : les 15 projets financés p.13
- ✓ 3<sup>e</sup> appel à propositions de recherche lancé en 2010 p.14
- ✓ Autres actions et programmes en rapport avec perturbateurs endocriniens p.15

## Contexte général

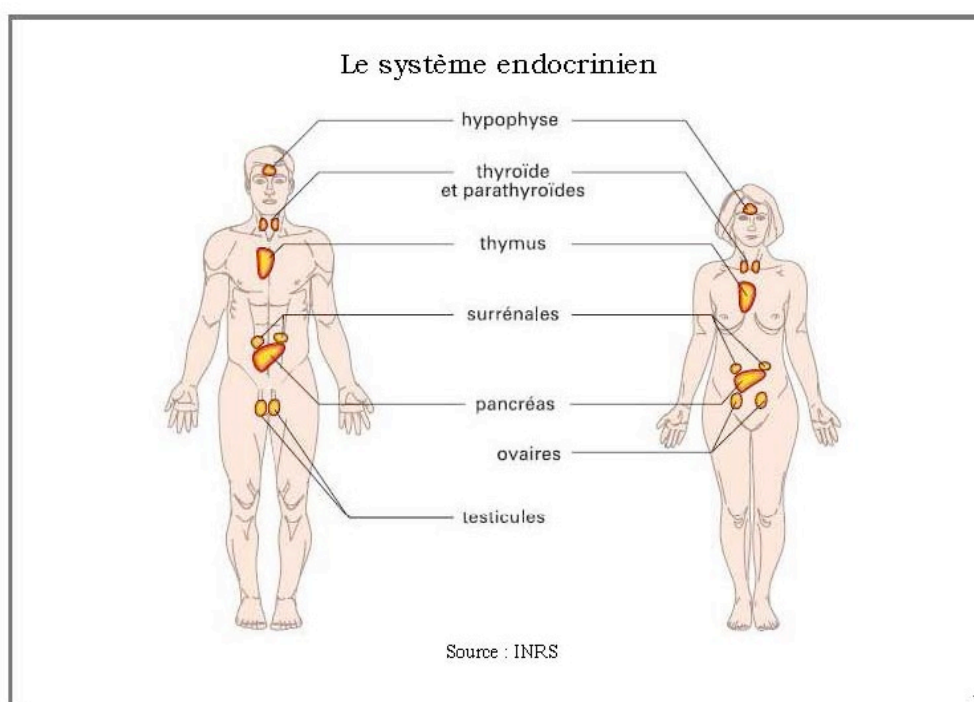
Le Ministère de l'Écologie, de l'Énergie, du Développement durable et de la Mer organise le 12 avril à Rennes un colloque sur les **premiers résultats du Programme national de recherche sur les perturbateurs endocriniens (PNRPE)**, présentant les apports des recherches conduites entre 2006 et 2009. Entre 100 et 200 chercheurs, membres d'agences sanitaires, ministères et collectivités territoriales y sont attendus.

La prise de conscience de la présence dans l'environnement de substances susceptibles de perturber les systèmes endocriniens des animaux et de l'homme, et de provoquer certaines **pathologies**, s'est développée dans les années 1990. Plusieurs études ont notamment révélé des **anomalies du système reproducteur chez diverses espèces** de poissons, de reptiles et de gastéropodes, en relation avec des contaminations de ces milieux par des polluants chimiques. Des travaux plus fondamentaux ont permis de commencer à déchiffrer les mécanismes par lesquels certains composés d'origine extérieure à l'organisme peuvent interagir avec le système endocrinien.

Concernant les populations humaines, dans certains pays industrialisés, la fertilité masculine pourrait s'altérer, avec notamment une diminution possible de la production spermatique de 50 % en 50 ans, un doublement certain de l'incidence du cancer du testicule, et une augmentation possible de l'incidence de certaines malformations congénitales (cryptorchidie, hypospadias). L'hypothèse des perturbateurs endocriniens soulève la question de la part des expositions environnementales à des contaminants chimiques dans ces évolutions temporelles.

### 1. Le système endocrinien

Les glandes endocrines sécrètent des substances biologiques hautement actives appelées hormones. L'activité hormonale du corps humain est complexe et participe notamment au contrôle de la croissance, du développement, des comportements, de la reproduction, ainsi qu'à celui de la production, de l'utilisation et du stockage de l'énergie. Le système endocrinien et le système nerveux contrôlant l'ensemble du système de communication au sein du corps humain, leur fonctionnement est indispensable au maintien de la vie. On trouve des glandes endocrines chez la plupart des animaux, y compris chez les invertébrés.



## 2. Les perturbateurs endocriniens

Les substances exogènes qui peuvent interférer avec le fonctionnement des glandes endocrines et l'action des hormones sont désignées sous le terme de « Perturbateurs Endocriniens ». Elles sont présentes dans l'air, l'eau, le sol et les aliments. Tous les organismes vivants sont ainsi potentiellement exposés à ces contaminants.

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

## 3. Quelles substances sont des perturbateurs endocriniens ?

Selon leur origine, deux types de perturbateurs endocriniens peuvent être distingués :

- ✓ **des substances produites naturellement** par des organismes biologiques (notamment certaines plantes et champignons).
- ✓ **des substances de synthèse**, notamment des molécules pharmaceutiques et vétérinaires (distilbène, pilules contraceptives, traitements hormonaux des cancers, promoteurs de croissance, etc.), agricoles (DDT et autres pesticides organochlorés) et industrielles (agents plastifiants, retardateurs de flammes bromés, dioxines et certains métaux lourds, dont le plomb et le mercure).

Dans le cadre de sa stratégie communautaire concernant les perturbateurs endocriniens, l'Europe a établi en 2007 **une liste de 320 substances** (identifiées parmi près de 600 substances étudiées) susceptibles de perturber le système endocrinien humain. 66 d'entre elles sont qualifiées de perturbateurs endocriniens certains. Cette liste comprend des substances appartenant à plusieurs substances chimiques dont les phtalates, les phyto-oestrogènes, les dioxines, certains pesticides et métaux lourds, des composés bromés, etc.

## 4. Quels sont les effets potentiels sur la santé ?

On suspecte un certain nombre d'affections d'être consécutives à une exposition à ces substances.

- ✓ Altération des fonctions de reproduction masculine (concentration, mobilité des spermatozoïdes) ;
- ✓ Modification du sex-ratio (proportion de mâles à la naissance) des populations ;
- ✓ Trouble de la fonction reproductrice féminine en raison d'anomalies dans la différenciation sexuelle, la fonction ovarienne, la fertilité, de l'implantation de l'embryon et de la gestation ;
- ✓ Malformations congénitales du système reproducteur masculin ;
- ✓ Trouble de la maturité sexuelle ;
- ✓ Tumeurs des testicules, de la prostate et des seins ;
- ✓ Dans le cas de l'exposition de femmes enceintes, risques de mortalité intra-utérine et de restriction de croissance fœtale ;
- ✓ Modification de l'âge à la puberté ;
- ✓ Altération de la fonction thyroïdienne et du système immunitaire ;
- ✓ Troubles du métabolisme.

Cependant très peu de relations causales claires entre une exposition à une substance environnementale et un effet sanitaire via un mécanisme d'altération du fonctionnement des hormones n'ont pu être clairement établies à ce jour chez l'Homme.

# Programme national de recherche sur les perturbateurs endocriniens (PNRPE)

Afin de répondre aux enjeux environnementaux et de santé publique, le Programme National de Recherche sur les Perturbateurs Endocriniens (PNRPE) a été créé en 2005 par le Ministère en charge de l'environnement et du développement durable, à la suite de l'avis rendu par le Comité de prévention et de précaution (CPP).

Le PNRPE a pour objectif de soutenir des **recherches fondamentales et appliquées** en appui aux praticiens de l'action publique sur les questions de perturbation endocrinienne.

Par le caractère **transversal et pluridisciplinaire** des problématiques qu'il aborde, le PNRPE a vocation à rassembler les acteurs de différentes disciplines (biologie fondamentale, médecine, écotoxicologie, épidémiologie, sciences humaines et sociales...) et à contribuer au développement d'une communauté de chercheurs sur la thématique de la perturbation endocrinienne.

La conduite du programme est assurée par le Service de la Recherche au sein de la Direction de la Recherche et de l'Innovation du Commissariat Général au Développement Durable (MEEDDM - CGDD/DRI).

## Le PNRPE en chiffres

### ✓ 3 appels à propositions de recherche

- Le 1<sup>er</sup> appel à propositions de recherche, lancé en 2005, était destiné à susciter des projets de recherche sur l'ensemble des thématiques du programme.
- 2009-2012 : publié en 2008, ce 2<sup>e</sup> APR a ouvert le programme aux sciences humaines et sociales
- Un 3<sup>e</sup> APR sera lancé au second semestre 2010 par le MEEDDM, avec un objectif d'approfondissement des pistes dans les domaines de recherche concernés et une finalité d'aide à la décision publique et d'amélioration des connaissances en matière de caractérisation du risque, qu'il soit sanitaire ou environnemental.

### ✓ 4 thématiques étudiées

- Mécanismes d'action, relation structure-activité (SAR et QSAR), mélanges de perturbateurs endocriniens
- Mesure des expositions, épidémiologie, écotoxicologie, surveillance et évaluation des risques pour les milieux et les organismes
- Outils pour la réglementation (criblage d'activité, développement de tests...)
- Sociologie de l'action publique

### ✓ 22 projets de recherche financés depuis 2005

- 7 projets retenus en 2005 sur 3 thématiques : la reproduction, les tests prédictifs et la toxico-écotoxicologie.
- 15 projets retenus en 2009 (voir annexe 1).

### ✓ 60 équipes de recherche mobilisées dans le secteur public et privé

AFFSA, CEMAGREF, CNRS, CTIS, APHAP, Ecole nationale vétérinaire de Lyon, Ecole nationale vétérinaire de Toulouse, INERIS, INRA, INSERM, L'Oréal, Muséum National d'Histoire Naturelle, Procter & Gamble, Universités, Watchfrog ...

### ✓ Un budget de 3 millions € (2,6 M€ financés par le MEEDDM et 0,4 M€ financés par l'ADEME)

- 900 000 € sur la période 2005-2009
- 2,1 millions € sur la période 2009-2012

## Les instances du PNRPE

**Le Comité d’Orientation** a pour mission de définir les orientations stratégiques du programme et d’identifier les besoins respectifs de l’ensemble des parties prenantes en matière de recherche, d’animation et de valorisation.

### Composition

#### **ADEME**

Agence De l’Environnement et de la Maîtrise de l’Energie

#### **AESN**

Agence de l’Eau Seine Normandie

#### **AFSSA**

Agence Française de Sécurité Sanitaire des Aliments

#### **AFSSET**

Agence Française de Sécurité Sanitaire de l’Environnement et du Travail

#### **ANR**

Agence Nationale de la Recherche

#### **CEA**

Commissariat à l’Energie Atomique

#### **MDRGF**

Mouvement pour le Droit et le Respect des Générations Futures

#### **MEEDDM**

Ministère de l’Ecologie, de l’Energie, du Développement Durable et de la Mer

#### **CGDD**

Commissariat général du développement durable

#### **DGALN**

Direction générale de l’aménagement, du logement et de la nature

#### **DGPR**

Direction générale de la prévention des risques

#### **MSS - DGS**

Ministère de la Santé et des Sports, direction générale de la santé

#### **MESR - DGRI**

Ministère de l’Enseignement Supérieur et de la Recherche, direction générale de la recherche et de l’innovation

#### **ONEMA**

Office Nationale de l’Eau et des Milieux Aquatiques

#### **Suez Environnement**

**Le Conseil Scientifique** traduit les orientations stratégiques en thèmes de recherche pertinents, prépare les textes d’appel à propositions de recherche, en expertise les réponses, évalue les résultats des projets financés et propose des actions de valorisation. Le Conseil Scientifique est présidé depuis 2008 par **Rémy Slama** (Inserm et Université Joseph Fourier, Institut Albert Bonniot à Grenoble).

### Composition

Jacques AUGER (APHP – Cochin)  
Patrick BALAGUER (Inserm, Montpellier)  
Yannick BARTHE (CSI-CNRS)  
Catherine BENNETAU-PELISSERO (Inserm, Bordeaux)  
Jean-Pierre BOURGUIGNON (CHU de Liège)  
François BRION (INERIS)  
Thierry CAQUET (INRA, Rennes)  
Marie-Christine CHAGNON (ENSBANA, Dijon)  
Sylvaine CORDIER (Inserm, IRSET - Rennes)  
Xavier COUMOUL (Inserm et Université Paris Descartes)

Jean-Pierre CRAVEDI (INRA, Toulouse)  
Barbara DEMENEIX (CNRS- MNHN, Paris)  
James DEVILLERS (CTIS, Rillieux-la-Pape)  
Sylvia FASANO (Université de Naples)  
Yves LEVI (Université Paris-Sud XI)  
Nicolas OLEA (Université de Grenade, Espagne)  
Martine PERROT-APPLANAT (CNRS, Paris)  
Alexandre PERY (INERIS - METO)  
Jean-Marc PORCHER (INERIS)  
Daniel VAIMAN (Inserm, Institut Cochin, Paris)  
Maria-Christina ZENNARO (Inserm/PARCC – Hôpital Européen G. Pompidou, Paris)

# Programme du colloque de Rennes : les apports de la recherche sur les perturbateurs endocriniens

Les objectifs du colloque sont doubles :

- présenter les résultats des **sept premiers projets** financés dans le cadre du Programme national de recherche sur les perturbateurs endocriniens (PNRPE), qui ont impliqué 28 équipes de chercheurs
- mener une réflexion prospective sur les orientations du programme pour les années à venir.

Il s'articule autour des trois grandes thématiques du programme inscrit dans le premier appel à propositions de recherche :

- L'exposition humaine aux perturbateurs endocriniens et épidémiologie
- L'impact des perturbateurs endocriniens sur les milieux naturels
- Les nouveaux outils expérimentaux en appui aux tests réglementaires

## 1<sup>ère</sup> session : exposition humaine aux perturbateurs endocriniens et épidémiologie

### 1 • Expositions gestationnelles et postnatales à la génistéine et à la vinclozoline, seules et en association

Responsable scientifique : Jacques Auger, Service de Biologie de la Reproduction, Hôpital Cochin, Paris

Ce programme multidisciplinaire (achevé) est a priori le premier à démontrer de manière concomitante des altérations notables de la physiologie de plusieurs organes en réponse à une exposition à **dose alimentaire de génistéine** et/ou une dose faible de **vinclozoline**, principalement après une exposition gestationnelle et lactationnelle mais aussi avec une exposition post-lactationnelle jusqu'à l'âge adulte. Ce programme a été mené selon deux modalités d'exposition chez le rongeur.

#### ✓ Objectifs de la recherche

- déterminer les impacts d'un mélange à faibles doses de génistéine et de vinclozoline sur l'appareil reproducteur, le cartilage, les glandes salivaires, la glande mammaire,
- étudier la part respective des expositions gestationnelles/ lactationnelles et adultes dans les effets observés chez l'adulte,
- évaluer si les expositions à doses faibles chez le père ont un impact dans la descendance,
- tenter de préciser les mécanismes en cause,
- compléter les données sur le devenir dans l'organisme et les concentrations tissulaires des molécules et/ou de leurs métabolites, notamment lorsque vinclozoline et génistéine sont associées.

## ✓ Principaux résultats

L'exposition *in utero* à la vinclozoline diminue le nombre de gonocytes dans la période néonatale sans conséquence à long terme sur la production de spermatozoïdes. D'une manière générale, les expositions pendant la gestation/lactation ne retentissent pas sur la stéroïdogénèse en période néonatale. Des **anomalies développementales de l'appareil reproducteur mâle**, principalement des testicules non descendus, sont observées **pour environ 1/3 des animaux exposés au mélange**.

L'exposition pendant la gestation/ lactation à la vinclozoline ou au mélange **retarde la puberté chez le mâle**. Les trois modalités d'exposition féminisent le comportement alimentaire chez les mâles en début de puberté, modifient l'histologie et la vitesse de maturation des glandes salivaires avec un effet lié au sexe, elles perturbent sévèrement le développement pubertaire de la glande mammaire. Curieusement, il a été constaté que l'exposition à la vinclozoline ou au mélange induisait la formation de nodules cartilagineux ectopiques paravertébraux.

Enfin, des formations ectopiques paravertébrales, des anomalies du comportement alimentaire et de l'appareil génital mâle ont été observées en deuxième génération non exposé issue de pères exposés.

Le décryptage des mécanismes d'action est toujours en cours dans la plupart des équipes.

**La génistéine** : composant faiblement oestrogénique qui se trouve notamment dans les germes de soja.

**La vinclozoline** : fongicide utilisé dans la viticulture, interdit à partir du 1<sup>er</sup> janvier 2007.

## 2 • Impact des expositions au chlordécone sur le développement intra-utérin et postnatal

Responsable scientifique : Sylvaine Cordier, Inserm U 625, Université Rennes 1

Les départements français d'Amérique, la Guadeloupe et la Martinique, subissent une pollution environnementale par le chlordécone, **un insecticide organochloré employé par le passé dans la culture de la banane**. Son usage a entraîné une pollution, toujours présente, des sols et des cours d'eaux conduisant à une contamination de certaines ressources alimentaires végétales et animales et à l'imprégnation des populations. De nombreuses données expérimentales attestent du caractère neurotoxique et reprotoxique du chlordécone, incluant des effets sur le développement intra-utérin et postnatal. De plus, le chlordécone est considéré comme un perturbateur endocrinien. Afin d'étudier l'impact de ses expositions environnementales sur le déroulement de la grossesse et le développement de l'enfant, 1 074 femmes en fin de grossesse (cohorte de 1 101 femmes avec taux de participation de 92,8 %) ont fait l'objet en Guadeloupe d'une étude prospective entre fin 2004 et début 2008. Des prélèvements de sang maternel et de sang de cordon ont été réalisés. Un questionnaire alimentaire fréquentiel et semi-quantitatif portant sur l'alimentation pendant la grossesse a pu être administré à 857 femmes en suite de couches. 267 enfants nés à terme et sans retard de croissance intra-utérine ont été examinés à 3 mois et 238 à 7 mois.

## ✓ Principaux résultats de cette recherche en cours

Les analyses actuelles suggèrent certaines associations entre l'exposition prénatale au chlordécone, le risque de naissance prématurée, certaines caractéristiques du système génital ou la croissance de l'enfant à 3 mois. Ainsi, il existe une association entre la présence de chlordécone dans le sang du cordon et l'accroissement de la prise de poids et de l'index pondéral de la naissance à l'âge de 3 mois.

Au niveau de l'exposition, on peut noter que les principaux contributeurs de l'exposition alimentaire au chlordécone sont les poissons et crustacés (40 %), les légumes racines (30 %) et les cucurbitacées (10 %).

Le chlordécone a été détecté dans 62 % des prélèvements de sang maternel et 28 % des prélèvements de sang du cordon.

Toutefois, compte tenu des niveaux relativement faibles d'exposition, la réalisation de la totalité des déterminations de concentrations de chlordécone dans les prélèvements biologiques est une priorité pour aboutir à des conclusions plus solides et tenter une interprétation des associations trouvées.

**Chlordécone** : produit phytosanitaire, insecticide organochloré employé jusqu'en 1993 dans les Antilles françaises, la Martinique, la Guadeloupe...

### 3 • Fipronil et retardateurs de flamme polybromés : exposition et altération des fonctions thyroïdienne et corticosurrénalienne

Responsable scientifique : Catherine Viguié, physiopathologie et toxicologie expérimentales, INRA ENVT-UMR, Toulouse

Le fipronil, un insecticide agrovétérinaire très répandu, a été identifié par les études toxicologiques comme un perturbateur potentiel de la fonction thyroïdienne. Les retardateurs de prise de feu de la famille des poly-bromo-diphényle éthers (PBDE) sont des produits chimiques incorporés dans les matières plastiques et dans la production de mousses et matériaux de capitonnage dans le but de leur conférer des propriétés ignifuges. Depuis le 15 août 2004, seul le Décabromodiphényle éther est autorisé au sein de l'Union Européenne. L'implication de ces produits ou de leurs métabolites en tant que dérégulateurs endocriniens apparaît probable, notamment à cause de leur affinité importante pour les protéines de transport des hormones thyroïdiennes.

#### ✓ Objectifs de la recherche

Ce programme de recherche a pour ambition d'établir un schéma intégratif aussi complet que possible de l'exposition et du mode d'action de ces deux types de composés sur la fonction thyroïdienne (dont les altérations ont vu leur incidence augmenter de façon importante) et sur la fonction corticotrope (gestion du stress), qui, pour sa part, n'est que très rarement évaluée.

#### ✓ Principaux résultats de la recherche

**Fipronil** : le principal mode d'action du fipronil sur la fonction thyroïdienne passerait par une stimulation du métabolisme hépatique des hormones thyroïdiennes, induisant une augmentation de la clairance de la thyroxine (T4). Ceci est particulièrement clair chez le rat, mais a également pu être démontré chez le mouton, espèce jugée plus pertinente que le rat par rapport à l'homme en termes de régulation de la fonction thyroïdienne. Cependant, ces effets sont beaucoup plus limités chez le mouton et n'ont pas d'incidence sur les concentrations en hormones circulantes à l'instar de ce qui est observé chez l'homme dans le cadre d'exposition professionnelle chronique à faible dose.

**Retardateurs de flamme polybromés (PBDE)** : le composé décabromé se métabolise très faiblement *in vivo* et sur cultures d'hépatocytes. Il n'aurait, du moins à court terme et à faible dose, pas d'effets importants sur la fonction thyroïdienne dans un modèle ovin. Le modèle ovin a permis en outre de tester l'hypothèse d'une interaction possible avec la principale protéine de transport des hormones thyroïdiennes chez l'homme et le mouton. Les dérivés

faiblement bromés pourraient interagir avec cette protéine en induisant des modifications subtiles du comportement pharmacocinétique de la forme libre des hormones.

**Fipronil** : produit phytosanitaire (insecticide). **Retardateurs de flamme polybromés** : produits chimiques utilisés dans les matières plastiques et d'autres matières présentes dans les postes de télévision, de radio, ordinateurs, l'équipement automobile, les appareils ménagers, etc.

## 2<sup>e</sup> session : impact des perturbateurs endocriniens sur les milieux naturels

*Dans l'environnement, les organismes sont le plus souvent exposés à des mélanges complexes de substances dont les interactions sont délicates à appréhender.*

### 1 • Evaluation de l'impact des perturbateurs endocriniens sur les milieux aquatiques (SURVAQUA)

Responsable scientifique : Jean-Marc Porcher, INERIS, Verneuil-en-Halatte

Outre la mise en place d'un certain nombre d'outils d'évaluation de la contamination des milieux aquatiques par les perturbateurs endocriniens (tests sur invertébrés, aromatase chez le poisson, tests *in vitro* d'activités œstrogénique et androgénique), ce programme a permis de mettre en évidence la présence d'effets de perturbation endocrinienne sur un certain nombre de sites français sélectionnés en raison de leur typologie de contamination (agricole, urbaine, industrielle) et/ou de leur configuration particulière (amont/aval d'un site de rejet, restauration d'un milieu impacté par une station d'épuration des eaux usées, etc.).

#### ✓ Principaux résultats

Sur les crustacés : des études au laboratoire ont permis de caractériser le cycle de reproduction des gammarus (*Gammarus fossarum*) et de développer la mesure de l'expression du gène codant pour la **vitellogénine** comme biomarqueur de la perturbation endocrinienne. Ces travaux seront poursuivis pour caractériser et quantifier les protéines de réserve et pour évaluer le pouvoir discriminant de la vitellogénine en milieu naturel.

Sur les gastéropodes : trois espèces (*Potamopyrgus antipodarum*, *Valvata piscinalis* et *Lithoglyphus naticoides*) et deux cibles potentielles des perturbateurs (les stéroïdes et la vitelline) ont été sélectionnées. Les premiers résultats obtenus confirment la présence d'hormones stéroïdiennes à des concentrations quantifiables chez les trois espèces. La prochaine étape portera sur la variation temporelle des concentrations hormonales sur les organismes du milieu.

Sur les poissons : le travail méthodologique a consisté principalement à comparer ou à harmoniser les protocoles disponibles chez les différents partenaires (méthode de prélèvement poisson, dosage de l'EROD).

Sur les sédiments : différents sites localisés en aval d'activités humaines apparaissent très actifs, comme le Rhône à Givors (pollution industrielle et urbaine), la Deule à Don (site industriel Metal Europe), le Lez en aval de Montpellier (impacts urbains) ou la Nonette à Chantilly (impacts agricole et urbain). En milieu estuarien, certains points de la Seine et de la Loire ressortent comme étant très actifs alors que le site de Port du Bec (référence) apparaît également contaminé par des composés inducteurs d'EROD.

## 2 • Interactions entre composés oestrogéniques et dioxines sur la reproduction des poissons

Responsable scientifique : François Brion, INERIS, Verneuil-en-Halatte

Parmi les substances largement présentes dans le milieu aquatique figurent des composés oestrogènes mimétiques et des dioxines (PCB). A l'heure actuelle, les effets de ces substances sont très peu connus chez le poisson et il existe peu de données permettant de relier les mécanismes d'action de ces molécules aux effets biologiques et aux risques qu'elles peuvent représenter *in vivo* sur la fonction de reproduction.

Dans ce contexte, l'objectif de ce programme est d'étudier les interactions entre ces deux classes de composés ubiquistes sur des modèles poissons et d'en évaluer les impacts sur la fonction de reproduction.

### ✓ Principaux résultats

Cette recherche montre pour la première fois que les composés à activité *dioxin-like* exercent des effets anti-oestrogéniques sur l'expression d'un gène oestrogéno-régulé, l'aromatase B, dans le contexte glial radiaire *in vitro* et *in vivo*. En raison du rôle des cellules gliales dans la neurogenèse chez le poisson et du rôle que l'œstradiol est suspecté de jouer dans ce processus, les effets observés soulèvent la question des effets des molécules agonistes des récepteurs Ah et ER sur la neurogenèse. L'aromatase s'exprimant dans des structures cérébrales impliquées dans la reproduction, il est possible qu'une altération de l'expression de l'aromatase se répercute au niveau gonadique. D'une manière plus globale, ces données soulèvent la question des effets neuro-endocrines des molécules oestrogénomimétiques et à activité dioxine. Cet axe de recherche est actuellement pris en compte dans le cadre d'un programme dédié aux effets neuro-endocrines des perturbateurs endocriniens chez les vertébrés.

**Oestrogènes mimétiques** : ligands des récepteurs nucléaires des oestrogènes comme l'œstradiol (hormone naturelle), l'éthinylœstradiol (hormone de synthèse présente dans les pilules contraceptives), les alkyphénols, le bisphénol A.

**Dioxines** : ligands des récepteurs aux hydrocarbures aromatiques tels que les hydrocarbures aromatiques polycycliques, les composés dioxines, certains polychlorobiphényles (PCB).

## 3<sup>e</sup> session : de nouveaux outils expérimentaux en appui aux tests réglementaires

### 1 • Mise au point d'un test de criblage corrélé aux essais réglementaires en voie de développement

Responsable scientifique : Charles Pineau, Inserm U625, Rennes

Un premier inventaire des méthodes disponibles et adaptables à l'identification des perturbateurs endocriniens a été présenté par l'OCDE en mai 2001. Il a néanmoins conduit au développement de nouveaux essais. Les espèces aquatiques, notamment les poissons, sont privilégiées en raison de la fréquence des rejets industriels et urbains dans les eaux de surface et de la contribution de ces dernières à la production d'eau potable. L'objectif de ce projet est de mettre au point une méthode de criblage d'activité endocrinienne aux stades précoces de développement du poisson, et de contribuer à la validation du test réglementaire en développement.

L'étude est menée chez le **poisson Médaka** (poisson ovipare d'eau douce originaire d'Asie du Sud-Est) aux différents stades de développement : embryonnaires, larvaires et juvéniles.

Il s'agit d'identifier les protéines qui, chez le poisson modèle, sont associées aux altérations du développement de l'appareil reproducteur.

### ✓ Premiers résultats de cette recherche en cours

L'étude a permis de mettre en évidence de 22 protéines différentiellement exprimées. Une étude complémentaire a mis en évidence 39 candidats biomarqueurs de l'exposition à l'éthynyl oestradiol.

Les candidats biomarqueurs devaient être identifiés en tenant compte de deux contraintes majeures :

- la nécessité de travailler sur le poisson entier et non sur des organes après dissection, ce qui est techniquement impossible sur les jeunes alevins ;
- la nécessité de développer un test rapide à mettre en place, peu complexe techniquement et surtout peu coûteux.

Après validation, ces biomarqueurs pourront être utilisés en cosmétologie pour le criblage des effets "type perturbateurs endocriniens" de produits actifs afin de tester l'innocuité de ces produits.

## 2 • Développement d'un test physiologique « *in vitro* » rapide sur les embryons amphibiens pour mesurer les effets de perturbations thyroïdiennes

Responsable scientifique : Barbara Demeneix, Muséum national d'histoire naturelle, CNRS, Paris

Afin de comprendre comment les substances sont modifiées et accumulées dans les organismes, la chimie et les méthodes *in vitro* ne sont pas suffisantes. Seul le test *in vivo* concilie à la fois réalité physiologique et sensibilité.

D'autres facteurs sont à prendre en compte :

- le besoin de rapidité,
- la considération des coûts engendrés par le criblage d'un grand nombre de substances,
- la nécessité de limiter le recours aux animaux de laboratoire pour l'évaluation des substances chimiques commercialisées dans l'Union Européenne.

Pour détecter les perturbateurs thyroïdiens, un test a été développé sur le modèle *Xenopus laevis*. Il combine les avantages d'être rapide, automatisable, sensible, reproductible, et peu coûteux, et surtout d'être le reflet de ce qui se passe au niveau physiologique. L'amphibien étant utilisé depuis des décennies comme modèle pour comprendre la mécanique thyroïdienne, le choix s'est porté sur des têtards de Xénope. L'ingénierie de laboratoire a développé des modèles transgéniques qui émettent une protéine fluorescente verte si on place dans l'eau de l'hormone thyroïdienne.

### ✓ Principaux résultats

L'approche est compatible avec le criblage de moyen à haut débit et se compare favorablement avec le test de référence reconnu par l'OCDE pour la détection de perturbateurs thyroïdiens, le test de métamorphose amphibien XEMA. Cependant il représente un gain de temps considérable : trois jours contre trois semaines pour le XEMA, facteur important vu le nombre de substances à tester dans le cadre de REACH. Cette technologie innovatrice utilisant la lecture automatique montre peu de variabilité et permet de détecter l'inhibition ou l'activation de la signalisation des HT par les perturbateurs endocriniens *in vivo*. Le test a été validé sur les substances suivantes : le méthimazole et perchlorate, le NH3 et l'acide ipanoïque.

## Annexe 1

# 2<sup>e</sup> appel à propositions de recherche (2009-2012) : les 15 projets financés

- ✓ Développement d'outils analytiques et biologiques pour l'étude de l'exposition, des effets et du devenir de perturbateurs endocriniens dans le milieu aquatique (eau, sédiment, organisme).
- ✓ Savoirs, expertise, régulation : comment les « perturbateurs endocriniens » sont-ils devenus des objets de gouvernement ? Une comparaison France-Etats-Unis.
- ✓ Perturbateurs endocriniens et augmentation du risque de diabète de l'enfant. Analyse à l'échelle du territoire national.
- ✓ Modulateurs environnementaux de l'activité de l'hétérodimère RXR-PPAR gamma. Etude de leur mécanisme d'action en lien avec les effets endocrines, de leur métabolisme et de leur présence dans des matrices environnementales et alimentaires.
- ✓ Exposition continue à des mélanges de Perturbateurs Endocriniens à doses environnementales : impact sur la Reproduction, le Développement et le Comportement Alimentaire.
- ✓ Réponses individuelles et populationnelles des abeilles aux perturbateurs endocriniens xénobiotiques.
- ✓ La vitellogénine comme biomarqueur d'exposition et d'effet aux perturbateurs endocriniens chez *Gammarus fossarum* et *Eurytemora affinis* : développement et application in situ.
- ✓ Détection et évaluation chez le poisson Médaka des effets endocrines de composés médicamenteux anti-inflammatoires sur les récepteurs aux corticostéroïdes.
- ✓ Approches cellulaire, moléculaire et expérimentale de l'effet des polychlorobiphényles sur la biologie de l'adipocyte et de la plaquette : implications dans l'obésité, le diabète et la thrombose.
- ✓ Caractérisation des voies de signalisation impliquées dans les effets estrogéniques/anti-estrogéniques des hydrocarbures aromatiques.
- ✓ Distilbène : quelles leçons sociologiques ? Une expérience médicale et sociale des perturbateurs endocriniens.
- ✓ Effets à long terme de la mycotoxine zéaralénone sur le développement pathologique de tissus hormono-dépendants : testicule, prostate, glande mammaire.
- ✓ Contamination de l'air ambiant par les perturbateurs endocriniens en Ile-de-France et caractérisation d'effets toxiques associés.
- ✓ Les interactions Perturbateurs EndoCriniens-MICroorganismes et Matières OrGaniques, moteurs de l'écodynamique et de l'impact des polluants au sein d'écosystèmes épuratoires – PecMicMog.
- ✓ Modèles Intégrés pour déceler la perturbation thyroïdienne à faibles doses.

## Annexe 2

### 3<sup>e</sup> appel à propositions de recherche lancé en 2010

En 2010, le Ministère de l'Ecologie, de l'Energie, du Développement durable et de la Mer (MEEDDM) propose un nouvel APR avec l'objectif d'approfondir des pistes dans des domaines de recherche, avec une finalité d'aide à la décision publique et d'amélioration des connaissances en matière de caractérisation du risque, qu'il soit sanitaire ou environnemental.

#### Les thèmes de recherche envisagés

- ✓ Caractérisation de l'exposition aux perturbateurs endocriniens
- ✓ Phénomènes de cocktail de substances et de leurs métabolites ou produits de dégradation
- ✓ Modulation de la réponse aux perturbateurs endocriniens
- ✓ Analyse du risque sanitaire ou des coûts induits par l'exposition aux perturbateurs endocriniens
- ✓ Prise en charge du problème des perturbateurs endocriniens dans les politiques publiques
- ✓ Perturbateurs endocriniens et pratique scientifique

## Annexe 3

# Les autres actions et programmes en rapport avec les perturbateurs endocriniens

**La problématique des perturbateurs endocriniens fait l'objet ou s'inscrit dans de nombreuses initiatives importantes au niveau national.**

- ✓ **Dans le cadre du Grenelle**, l'engagement 143 du Grenelle indique : « les produits phytosanitaires concernant des substances extrêmement préoccupantes (CMR1, CMR2 et substances bioaccumulables) seront interdits à la vente dès 2008 pour un usage domestique ou dans des lieux publics. Le cas des substances préoccupantes (dont CMR3) sera traité dans le cadre de l'élaboration du PNSE 2 ». L'engagement 98, analogue dans le domaine de l'eau, se réfère de façon explicite aux perturbateurs endocriniens,
- ✓ **Le plan Ecophyto 2018** : la réduction de l'usage des pesticides est une priorité du Gouvernement inscrite dans la loi de programmation relative au Grenelle Environnement. La loi fixe l'objectif de réduire de moitié l'usage des produits phytopharmaceutiques en 10 ans en accélérant la diffusion de méthodes alternatives sous réserve de leur mise au point. Cette ambition s'est traduite par la mise en œuvre du plan Ecophyto 2018.
- ✓ **Le Plan National Santé Environnement "2"** (PNSE 2009-2012) : prévu par le projet de Loi de Grenelle, le PNSE 2 a été publié en juillet 2009. Il inclut notamment la réduction des rejets dans l'environnement des substances les plus préoccupantes, dont les résidus médicamenteux. Il contient également des mesures destinées à améliorer l'anticipation des risques liés à ces substances et un programme de biosurveillance. Le plan prévoit aussi des dispositions ciblées destinées à réduire l'exposition des publics les plus sensibles aux produits cancérigènes, neurotoxiques et aux perturbateurs endocriniens. Ainsi, l'action 18 de ce plan s'intitule : "mieux gérer les risques liés aux reprotoxiques et aux perturbateurs endocriniens", et l'action 50 appelle à renforcer la recherche sur les perturbateurs endocriniens ainsi que la surveillance épidémiologique et la veille sanitaire dans ce domaine,
- ✓ **Le Plan National sur les Résidus de Médicaments dans les Eaux** (PNRM) qui s'inscrit dans l'action 47 du PNSE2 : « améliorer la connaissance et réduire les risques liés aux rejets de médicaments dans l'environnement ».
- ✓ **Le plan Chlordécone Antilles 2008-2010** dont les objectifs sont de renforcer la surveillance de la santé de la population, de continuer à réduire l'exposition de la population au chlordécone, de proposer des mesures d'accompagnement en agriculture et améliorer la surveillance des sols et des produits des jardins familiaux.

**Cet intérêt se retrouve au niveau communautaire**

- ✓ **Les conclusions du conseil environnement du 22 décembre 2009** qui formulent plusieurs attentes concernant les perturbateurs endocriniens et invitent en particulier la commission à prendre des initiatives sur les perturbateurs endocriniens à partir des travaux de recherche, notamment pour prendre en compte la problématique des expositions multiples.
- ✓ **Les travaux actuels de la commission** sur la mise en œuvre de la stratégie communautaire concernant les perturbateurs endocriniens, que la commission a adopté et conduit depuis 1999.
- ✓ **Le projet d'inclusion de plusieurs substances dans le cadre de REACH**. Le règlement REACH, entré en vigueur le 1er juin 2007, est un système européen unique d'enregistrement (Registration), d'évaluation (Evaluation) et d'autorisation (Authorisation)

des substances chimiques (CHemicals). Il couvre le contrôle de la fabrication, de l'importation, de la mise sur le marché et de l'utilisation des substances chimiques. Ce règlement a pour objectif d'assurer une meilleure protection de la santé et de l'environnement. Le règlement REACH est une avancée considérable. Ainsi, c'est dorénavant aux industriels de démontrer que les risques liés aux substances qu'ils produisent ou importent sont valablement maîtrisés, et non plus aux autorités publiques : c'est le renversement de la charge de la preuve.

Plusieurs programmes ou projets scientifiques centrés sur les perturbateurs endocriniens ou interagissant avec ce sujet sont conduits par les organismes de recherche ou en charge du financement de la recherche. On pourra se référer ainsi aux programmes conduits par le ministère du développement durable (PNETOX, Pesticides) mais aussi par l'Agence Française de Sécurité Sanitaire de l'Environnement et du Travail (AFSSET), l'Agence Nationale de la Recherche (ANR), l'Office National de l'Eau et des Milieux Aquatiques (ONEMA). Les organismes de scientifiques (CNRS, INSERM, INRA, MNHN, CEMAGREF, INERIS, Universités, Ecoles vétérinaires...) sont mobilisés sur ces travaux.