

LA PROBLÉMATIQUE DES PERTURBATEURS ENDOCRINIENS : QUELLES SOLUTIONS ?

Mardi 25 Avril 2017
Maison de la Chimie - Paris

Ce colloque s'adressait aux **Industriels et aux chercheurs** concernés par la problématique des **Perturbateurs Endocriniens** dans l'industrie chimique, cosmétique, phytosanitaire ainsi que chez les **concepteurs, formulateurs**, et utilisateurs de produits de grande consommation.

Après avoir présenté les **méthodes** d'études existantes et les **liens de causalité** entre les Perturbateurs Endocriniens et les différentes pathologies, le but de ce colloque était de favoriser les **échanges** entre les différents acteurs sur cette problématique et sur les **solutions disponibles** pour les producteurs et utilisateurs de substances chimiques.

Comité d'Organisation :

Joël BARRAULT	Division de Chimie Industrielle de la Société Chimique de France
Pascale BRIDOU BUFFET	Fondation internationale de la Maison de la Chimie
Edouard FREUND	Fondation internationale de la Maison de la Chimie
Pascal ISNARD	Division de Chimie Industrielle de la Société Chimique de France
Jacques KERVENNAL	Fondation internationale de la Maison de la Chimie / Division de Chimie Industrielle
Alain LOMBARD	Allotoxconsulting
Patrice MEHEUX	Division de Chimie Industrielle de la Société Chimique de France
Bernard NEFF	Division de Chimie Industrielle de la Société Chimique de France

PROGRAMME

Ouverture du Colloque.

Edouard FREUND (Fondation internationale de la Maison de la Chimie)

Présentation de la problématique et des questions en suspens.

Jean-Pierre CRAVEDI (INRA - Toulouse)

PREMIÈRE SESSION : Tests, Identification des Perturbateurs Endocriniens.

Tests mécanistiques d'identification des Perturbateurs Endocriniens.

Nicolas CREUSOT (IRCM - Montpellier)

Stratégie des tests toxicologiques OCDE et Low Doses.

Alain LOMBARD (Allotoxconsulting - Paris)

Table Ronde : Stratégie d'évaluation des Perturbateurs Endocriniens.

DEUXIÈME SESSION : Lien de causalité entre Perturbateurs Endocriniens et des pathologies émergentes.

Perturbateurs Endocriniens : Liens de causalité confirmés et émergents.

Marie-Chantal CANIVENC-LAVIER (INRA - Dijon)

Les Perturbateurs Endocriniens : contribution de l'épidémiologie et causalité.

Luc MULTIGNER (INSERM - IRSET - Pointe à Pitre)

TABLE RONDE avec tous les conférenciers

Les Perturbateurs Endocriniens : Quels problèmes ? Quelles solutions ?

Introduction

→ Le point de vue d'un toxicologue.

Jean-François NARBONNE (Université de Bordeaux)

→ Quels enjeux pour l'industrie manufacturière ?

Le point de vue d'un utilisateur de matériaux.

Philippe ROLLAND (Renault - Guyancourt)

Discussion

Conclusions sur la problématique Perturbateurs Endocriniens.

Claude MONNERET (Académie nationale de Pharmacie - Paris)

Sommaire

	Pages
Présentation de la problématique et des questions en suspens. Jean-Pierre CRAVEDI	07
<i>Tests mécanistiques d'identification des Perturbateurs Endocriniens.</i> Nicolas CREUSOT	09
<i>Stratégie des tests toxicologiques OCDE et Low Doses.</i> Alain LOMBARD	10
<i>Table Tonde : Stratégie d'évaluation des Perturbateurs Endocriniens.</i>	12
<i>Perturbateurs Endocriniens : liens de causalité confirmés et émergents.</i> Marie-Chantal CANIVENC-LAVIER	13
<i>Les Perturbateurs Endocriniens : contribution de l'épidémiologie et causalité.</i> Luc MULTIGNER	16
<i>Introduction à la Table Tonde. Le point de vue d'un toxicologue.</i> Jean-François NARBONNE	18
<i>Quels enjeux pour l'industrie manufacturière ?</i> <i>Le point de vue d'un utilisateur de matériaux.</i> Philippe ROLLAND	21
<i>Table Tonde.</i>	22
<i>Conclusion sur la problématique des Perturbateurs Endocriniens.</i> Claude MONNERET	26
<i>Conclusion générale du Comité d'Organisation.</i>	27
<i>Abréviations.</i>	28

Compte-rendu des interventions du colloque organisé le 25 avril 2017 par la Fondation de la Maison de la Chimie.

Présentation de la problématique et des questions en suspens.

Jean-Pierre CRAVEDI (INRA, Toulouse)

Son exposé a introduit la journée en montrant la complexité du sujet, les défis scientifiques posés et les recherches à mener.

L'OMS a validé en 1999 une définition des perturbateurs endocriniens : ce sont des substances ou mélanges exogènes 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.

Les risques que les PE peuvent entraîner pour la santé sont un sujet vaste et difficile qui fait l'objet de controverses scientifiques. Il n'y a pas de liste exhaustive de PE, mais parmi les exemples on trouve :

- des pesticides : insecticides (DDT, chlordécone, pyréthrénoïdes...), herbicides (atrazine, métribuzine...), fongicides (hexachlorobenzène, tributylétain, bénomyl...),
- des produits utilisés en cosmétique : parabènes, benzophénones...,
- des polluants industriels : alkylphénols, BPA, dioxines et furanes, PCB, phtalates¹, cadmium, plomb, mercure...,
- des substances naturelles : coumestrol, génistéine, phytoestrogènes...

Les PE apparaissent déjà dans plusieurs réglementations :

- règlement REACH : certaines substances préoccupantes peuvent être soumises à autorisation (CMR... mais aussi perturbateurs endocriniens),
- réglementation sur les pesticides (« substances approuvée que si elle n'est pas considérée comme PE pouvant être néfaste »),
- réglementation sur les biocides, cosmétiques. Directive cadre sur l'eau.

Ce sont des questions d'environnement liées à des effets sur certaines espèces animales qui ont ouvert le débat sur les PE et ont amené à étudier leur effet sur la reproduction et le développement : féminisation des poissons, démasculinisation des alligators (effet du DDE), hermaphrodisme des batraciens (effet de l'atrazine).

Sur les humains, c'est le cas du diéthylstilbestrol (DES), estrogène non stéroïdien utilisé pour le traitement des fausses couches, qui a mis en évidence les effets néfastes des PE. Il est à l'origine de cancers du vagin chez les filles dont les mères ont été traitées pendant leur grossesse, d'anomalies utérines ou testiculaires chez les enfants. Des effets transgénérationnels ont également été mis en évidence.

¹ Il faut distinguer les familles de phtalates. Ceux dérivés d'alcools à courte chaîne ne sont, en général, pas toxiques, au contraire de ceux issus d'alcools à plus longue chaîne (2-ethylhexanol). Cette remarque vaut également pour d'autres familles de produits (parabènes, alkylphénols...).

Les cibles des PE sont multiples : hypothalamus, hypophyse, thyroïde, reins, pancréas, ovaires, testicules. Les PE peuvent agir sur les récepteurs hormonaux en imitant les hormones (effet agoniste), ou en les bloquant (effet antagoniste) ou bien en perturbant leur dégradation. Ils peuvent aussi agir sur plusieurs récepteurs (cas du BPA) ou sur les protéines de transport des hormones (cas des PCB).

De nombreuses études de laboratoire ont été menées :

- atteintes de la reproduction, impact sur le développement,
- atteintes de la fonction thyroïdienne,
- cancers hormonaux-dépendants (sein, prostate),
- maladies du métabolisme, modifications du comportement.

Des effets tardifs à faibles doses peuvent caractériser les PE par rapport à la toxicologie classique où les courbes de réponses par rapport aux doses sont généralement monotones ; ainsi, des PE, seuls ou en mélange, pourraient provoquer des effets plus importants à plus faibles doses.

L'âge, lors de l'exposition, est aussi un facteur déterminant : les adolescentes exposées au DDT avant 14 ans auraient 5 fois plus de risques de développer un cancer du sein que celles exposées après cet âge.

L'OMS a listé en 2012 une série d'impacts des PE sur la santé :

- le rôle de certains PE sur la reproduction chez la femme est plausible,
- il y a peu de données sur l'avancement de l'âge de la puberté,
- l'exposition aux PCB, dioxines, pesticides, phtalates pendant la vie fœtale est susceptible d'entraîner une diminution de la qualité du sperme à l'âge adulte,
- certains PE (dioxines...) peuvent modifier le sexe-ratio,
- il y a un lien probable entre PE et cryptorchidie (anomalie des testicules),
- il est plausible que des PE aient une incidence sur les cancers hormonaux dépendants, de même qu'avec le diabète et l'obésité.

En conclusion, il y a de nombreux défis pour la recherche :

- effets à faibles doses et multiplicité des cibles avec les interactions possibles de mélanges de PE,
- les batteries de tests sont actuellement incomplètes,
- les effets retards, après l'exposition, et transgénérationnels sont à préciser.

Tests mécanistiques d'identification des Perturbateurs Endocriniens.

Nicolas CREUSOT, Patrick BALAGUER
(Institut de Recherche sur le Cancer, INSERM, Montpellier)

Cet exposé présente les différentes méthodes actuellement utilisées pour la caractérisation du potentiel perturbateur endocrinien de composés seuls ou en mélange.

L'un des modes d'action des PE les plus décrits est l'interaction avec les récepteurs nucléaires (RN) qui agissent comme des facteurs de transcription et interviennent dans la régulation de gènes clefs dans la reproduction, le développement, l'homéostasie des organismes. Aussi l'interaction des PE avec ces RN tels que, le récepteur des œstrogènes (ER, *estrogen receptor*) peut conduire à une suractivation ou une répression de la réponse cellulaire aux hormones et ainsi à des effets néfastes sur les grandes fonctions des organismes. Aussi ce mécanisme constitue la base d'une multitude de méthodes d'identification des PE.

Comme évoqué précédemment, l'action des PE peut être médiée par différents récepteurs :

Exemples de PE	Applications (effets)	Récepteurs cibles
Bisphénol A (BPA)	Plastifiant	RXR, AR, ERR
Alkylphenols	Détergents	PXR, AR, ERRy
Phtalates	Plastifiants (obésogènes)	PXR, AR, ERs
Chlordecone	Pesticide persistant interdit (associé au cancer de la prostate)	Er α , ER β
Perfluorés (PFC, PFOA)	Fluoropolymères	AR, ERs
Benzophénones	Filtres UV	ERs, AR
Organoétains	Biocides (obésogènes)	PPARs, RXRs

Il existe différentes méthodes de caractérisation de l'interaction avec les RN :

- **« In silico » ou cristallographiques:**

On trouve d'abord les modèles mathématiques QSAR (Quantitative Structure Activity Relationship, QSAR) qui sont basées sur l'étude de la corrélation entre la structure chimique et l'activité biologique d'un composé. Il s'agit par exemple d'établir un lien entre la présence de certains groupes fonctionnel et une activité donnée (e.g. présence d'un groupement phénol et activité oestrogénique). Bien que pertinente dans le contexte du développement des méthodes alternatives, ces approches manquent encore de données expérimentales pour être opérationnelles en routine (i.e. faux positifs assez nombreux).

De manière complémentaire, la cristallographie au rayon X permet de mieux caractériser l'interaction du ligand avec le récepteur (i.e. conformation du récepteur ; identification des acides aminés dans la poche de liaison impliqués dans l'interaction) et ainsi de mieux comprendre les différences d'affinité, d'activité entre le PE et un récepteur donné. Elle permet ainsi de dériver des modèles d'interaction ligand-récepteur (e.g. @TOME2).

- **« In vitro » biochimiques (liaison à une protéine de transport, une enzyme, etc.)**

Test de liaison (binding) par liaison de ligands radioactifs ou fluorescents (moins contraignant) ou tests calorimétriques. Ce sont des méthodes utiles pour étudier les mécanismes d'action et adaptées au criblage à haut débit.

- **« In vitro » cellulaires**

Mesures d'expression de gènes, d'activités enzymatiques et de la prolifération cellulaire. Ces méthodes sont très utiles à l'étude des mécanismes et plus intégratives que les tests biochimiques

(elles permettent une prise en compte partielle de la pharmacocinétique des composés testés). Elles sont également adaptées au criblage à haut débit.

Elles sont applicables à la détection de PE dans des matrices et mélanges divers tels que des sédiments de rivière ou des préparations alimentaires.

▪ **« in vivo » (chez l'animal)**

Elles sont pour la plupart basées sur la mesure d'expression de gènes chez la souris, le rat, le poisson zèbre ou encore le xénope (batracien)..., souvent transgéniques (e.g. Green Fluorescent Protein, GFP). Ces méthodes sont souvent lourdes et coûteuses mais évoluent vers des approches plus simples, standardisées et abordables (e.g. test embryo-larvaires). Elles permettent de mieux intégrer la pharmacocinétique que les modèles *in vitro*.

Plusieurs de ces méthodes font l'objet de lignes directrices OCDE (voir exposé suivant).

Stratégie des tests toxicologiques OCDE et faibles doses.

Alain LOMBARD (Allotoxconsulting)

Cet exposé donne la vision d'un toxicologue qui reprend les différentes méthodes de détection des PE et insiste sur la nécessité de croiser les résultats puisque toutes ces méthodes présentent des avantages et des inconvénients et sont donc complémentaires.

Les tests doivent être validés pour être acceptés au niveau international. Les tests standardisés ont l'avantage d'être plus reproductibles et transférables et doivent être réalisés en respectant les bonnes pratiques de laboratoire (BPL). Il existe différentes réglementations, telle que : EU-REACH ; US-EPA.

Pour les dossiers toxicologiques, la fiabilisation des résultats fait appel à la cotation KLIMISCH qui a plusieurs niveaux :

- fiables sans restriction (BPL ; conformité aux normes/lignes directrices),
- fiables avec restriction (non BPL),
- non fiables (méthodes insuffisamment décrites),
- non évaluables (niveau insuffisant).

La stratégie des tests toxicologiques OCDE, publiée en 2012, comportent également différents niveaux :

- niveau 1 : basé sur les informations existantes selon la structure chimique,
- niveau 2 : tests « in vitro » renseignant sur le mécanisme,
- niveau 3 : tests « in vivo » relatifs à la reproduction (mécanismes et effets). Par exemple : le test utéro-trophique sur la rate (OCDE 440), ou des essais sur le poisson (OCDE 230). L'exposition se fait à plusieurs doses (définies à partir de la dose maximale tolérée),
- niveau 4 : tests « in vivo » à 90 jours donnant des informations précises sur tous les organes et les cibles hormonales. Par exemple : essai sur la puberté chez les rats mâles et femelles (OCDE 150) : détection des inhibiteurs thyroïdiens et d'autres agents pendant la pré-puberté, essais sur la reproduction des oiseaux (OCDE 206), des daphnies (OCDE 211), etc.,

- niveau 5 : tests « in vivo » complétant les dossiers pour la reproduction sur 1 génération puis les 2 suivantes. Par exemple : essai chez le rat (OCDE 416), ou le poisson médaka (OCDE 240).

Une variante des tests OCDE concerne le programme de screening de l'EPA :

- niveau 1 : identification des substances interagissant avec le système endocrinien,
- niveau 2 : relation dose/activité. Management du risque.

Il est rappelé que pour qu'une substance agisse, elle doit pénétrer dans l'organisme, être biodisponible et peut éventuellement être transformée, les métabolites pouvant parfois être encore plus dangereux (voir aussi les études de toxico-cinétique).

Enfin, l'exposé a abordé le cas des faibles doses qui font l'objet d'une large controverse. Il semble cependant qu'existe des cas où les effets sont plus prononcés à faible dose qu'à forte dose (courbes doses/réponses non monotones). Alain Lombard évoque une possible analogie avec les effets pharmacologiques des principes actifs médicamenteux pour lesquels on observe des effets à des doses inférieures aux doses toxiques. Toutes ces problématiques font l'objet de nombreux travaux et on peut noter en particulier ceux menés au Royaume Uni par un panel d'expert dans le cadre de la Royal Society of Chemistry et d'ECETOC.

En conclusion, les tests OCDE explorent les effets reprotoxiques des substances et certaines cibles des PE. Ces tests sont nécessaires au niveau réglementaire, par exemple dans REACH, mais sont-ils pleinement adaptés à la problématique des PE ?

Plusieurs questions sont posées :

- peut-on et comment utiliser les résultats de tests non validés ?
- Peut-on et comment utiliser les faibles doses dans l'évaluation des risques ?
- Peut-on et comment utiliser la notion de puissance pour discriminer entre substances peu et fortement actives ?
- comment mieux cibler les populations à risque ?
- peut-on substituer les notions de danger et de risque² ?

² Il y a aujourd'hui débat pour savoir si la réglementation sur les PE doit être basée uniquement sur la notion de danger (sans tenir compte de l'exposition) ou sur celle de risque (qui intègre les notions de danger et d'exposition).

Table Ronde : Stratégie d'évaluation des Perturbateurs Endocriniens.

Les différents intervenants du matin ont participé à la table ronde.

Dans quelle mesure les résultats des tests dépendent du choix de l'espèce ?

Alain Lombard répond que les tests sont généralement réalisés sur des espèces qui métabolisent de façon similaire à l'homme, tout en ayant une durée de vie courte. Il est par ailleurs nécessaire d'avoir des résultats sur plusieurs espèces afin de mieux intégrer les différences entre espèces, notamment au niveau du métabolisme puisque ce n'est pas forcément le produit initial qui agit mais éventuellement ses produits de dégradation.

Dans l'étude des accouplements par des tests « in vivo », les différents cas de figure sont étudiés, à savoir un mâle sain avec une femelle exposée aux PE ou l'inverse. Si les 2 ont été exposés, c'est la fécondité puis, le cas échéant, l'effet transgénérationnel qui sont étudiés.

Peut-on considérer qu'on dispose de tous les tests et qu'ils sont réalistes ?

Jean-Pierre Cravedi répond : en général, non ! Pour lui, si on considère la reproduction et le développement, la batterie de tests disponibles permet de réduire l'incertitude de façon acceptable. Mais certaines cibles des PE ne sont pas encore correctement explorées. Par exemple : l'effet du BPA sur la perméabilité intestinale qui joue un rôle dans l'arsenal immunitaire aux premiers jours de la vie. De même, aujourd'hui, rien n'existe sur le lien entre PE et autisme.

Marie-Chantal Canivenc ajoute que le test utéro-trophique est insuffisant et qu'on passe à côté d'éléments. Elle cite l'exemple du BPA et ajoute qu'il est vrai qu'on découvre encore de nouveaux récepteurs. En ce qui concerne le BPA, *JP. Cravedi* module en précisant que le niveau de preuve est bien inférieur pour le BPA par rapport au DES. Ce point est confirmé par *N. Creusot* qui insiste sur la complexité des mécanismes d'action mis en jeu et la nécessité de poursuivre les recherches.

Comparaison entre tests « in vitro » et « in vivo » ?

Pour Paule Vasseur³ (et l'ensemble des intervenants), ces derniers ont plus d'importance car ils sont plus intégratifs (prise en compte du métabolisme, etc.), mais une réponse positive aux premiers constitue une alerte.

³ Professeur de toxicologie et écotoxicologie à l'université de Metz.

Perturbateurs endocriniens, liens de causalité confirmés et émergents.

Marie-Chantal CANIVENC-LAVIER (INRA, Dijon)

Cet exposé fait un panorama des effets attribués aux perturbateurs endocriniens et introduit de nouvelles cibles des PE, dont le système digestif et les glandes salivaires. La perception du goût et la santé buccale sont sujettes à plusieurs interactions hormonales et pourraient donc être considérés comme des indicateurs de perturbation endocrinienne.

Rappel de deux types d'hormones dans l'organisme :

- Hormones de petite taille : stéroïdes sexuels, corticostéroïdes, hormones de la thyroïde T3, T4 (molécules chimiques simples dotées de structures aromatiques)
- Hormones de grande taille : hormones hypophysaires, leptine, insuline, glucagon, facteurs de croissance (EGF, NGF, TGF), neuromédiateurs (peptides ou protéines)

Les PE, qui sont des molécules chimiques simples, peuvent donc se fixer directement sur les récepteurs des hormones de petite taille, entraînant une compétition pour la fixation de l'hormone naturelle sur ces récepteurs. Ce phénomène de chimio-réception est comparable à celui de la perception sensorielle (goût et odeur) : il existe plusieurs récepteurs pour un odorant, et un odorant peut se fixer sur plusieurs récepteurs, les différents combinaisons pouvant conduire à des effets antagonistes ou synergiques. De même, il y aura différents effets des PE car ils peuvent se fixer sur plusieurs récepteurs d'une hormone. Selon le type de récepteurs, on aura un effet génétique (*i.e.* sur la transcription des gènes) ou épigénétique (*i.e.* sur la régulation du fonctionnement de la cellule). Par contre, l'action des PE sur les hormones de nature peptidique portera sur la biodisponibilité (synthèse, dégradation, transport) de l'hormone ou l'expression de son récepteur.

L'action des PE via un récepteur endocrinien est variable selon les tissus. Pour une hormone donnée, il existe plusieurs récepteurs, chacun ayant son degré d'affinité et ses fonctions cellulaires propres. Pour ce qui est des récepteurs aux œstrogènes, par exemple, l'utérus, le foie et le pancréas expriment le récepteur ER alpha, alors que le vagin, le tractus urinaire, la prostate, les vaisseaux sanguins, les os, les poumons, et les intestins expriment le récepteur ER beta. Les ovaires, les testicules, les glandes mammaires, le SNC, la peau, les glandes salivaires et l'épithélium buccal expriment les deux récepteurs ER alpha et ER beta. De plus une même molécule (hormone ou PE) peut se fixer sur plusieurs récepteurs, y compris sur ceux d'une autre hormone. C'est le niveau d'affinité qui conditionne la dose nécessaire pour obtenir une réponse biologique.

L'étude des perturbateurs endocriniens s'est d'abord focalisée sur un système hormonal limité à certaines glandes endocrines du système reproducteur (axe hypothalamo-hypophysaire-gonades), de l'axe thyroïdien et plus récemment de l'axe surrénalien. Toutefois, il faut y ajouter d'autres tissus non glandulaires comme les organes du système digestif (estomac, intestin, tissus adipeux, pancréas, foie, reins et cœur) qui synthétisent des hormones.

Le cerveau est aussi un organe endocrinien qui produit des neuromédiateurs et des hormones sexuelles. Il y a donc plusieurs modes de régulation hormonale des tissus. C'est pourquoi on parle aujourd'hui de système neuroendocrinien et métabolique. À noter que les glandes salivaires ne sont jamais mentionnées comme glandes endocrines alors qu'elles synthétisent aussi des hormones, plus communément appelées « peptides biologiquement actifs » : parmi

eux des facteurs de croissance (EGF, NGF...), mais aussi une substance active contre la douleur et l'anxiété (opiorphine) et une substance impliquée dans la composition des dents (parotine).

Les PE ont un mode d'action variable selon les tissus et le type d'hormone : soit un effet direct lié à la dose et l'affinité du récepteur, soit un effet indirect par action sur les voies de synthèse et du métabolisme. Les tests de détection des PE doivent donc explorer les bonnes cibles pour pouvoir mettre les effets PE en évidence. Par exemple, la femme en activité gonadique a un taux d'œstradiol circulant très important par rapport aux PE, d'où le fait qu'elle paraisse moins sensible. Toutefois, cela n'empêche pas forcément une action locale d'un PE apporté par voie cutanée. Cependant, certaines questions subsistent quant aux modes d'action des PE in utero. En effet, à ce stade, le fœtus est naturellement baigné dans un milieu riche en hormones maternelles. Expliquer l'action des PE à faibles doses à ce stade suggère l'implication de mécanismes plus complexes, probablement indépendant des récepteurs actuellement connus.

Par ailleurs, tout dimorphisme sexuel traduit l'effet majeur des hormones sexuelles : elles gouvernent l'apparition des caractères sexuels secondaires, mais agissent aussi sur la physiologie des réserves adipeuses, des glandes sensorielles, des bourgeons du goût, en y ajoutant des pathologies telles que sclérose en plaque et syndrome sec, ainsi que des modes de comportement (agressivité, affectivité) qui diffèrent selon les sexes.

Les données épidémiologiques sur la population traitée au distilbène (DES) est malheureusement riche d'enseignement. Lors d'une exposition in utero, les effets d'un PE sur la descendance peuvent s'exercer jusqu'à la quatrième génération. Les effets sur la mère (F0) sont souvent peu visibles. La F1 est directement exposée via la mère (fœtus, lactation). La F2 est exposée via les cellules germinales (résidus d'imprégnation fœtale de la mère). L'effet épigénétique n'apparaît qu'à la F3. L'exemple du DES recueilli par l'association HHORAGES montre des troubles du développement (appareil reproducteur, squelette) et du comportement chez les enfants exposés « in utero » qui sont rares chez des enfants non exposés et on observe encore des effets sur les enfants F3, notamment sur l'appareil reproducteur mâle.

Les études montrent que des enfants ayant une exposition précoce à faible dose à des PE peuvent développer des cancers programmés des glandes mammaires, des troubles cognitifs, des problèmes de développement des dents, des troubles du comportement alimentaire, sexuel et social. Par exemple des tests de dessins chez des enfants vivant dans des zones d'utilisation des pesticides traduisent un retard de développement du cerveau (apprentissage, écriture). L'autisme pourrait être lié à un défaut de régulation d'ocytocine par inactivation du récepteur qui est souvent coexprimé avec le récepteur ER beta (ligand de phyto-œstrogènes). On observe aussi des pubertés précoces à 8 ans, voire à 6 ans.

Chez les adultes, il faut une exposition à plus forte doses du fait des imprégnations hormonales. On attribue des effets reprotoxiques chez l'homme (cancer de la prostate, spermatogénèse), et la femme (cancers des seins, de l'utérus, des ovaires, fibromes et endométriose, perturbations thyroïdiennes). Ces effets des PE, y compris des phyto-œstrogènes, sont confirmés par l'expérimentation animale. De même, les défauts de minéralisation de la dent observés chez le rat lors d'une exposition précoce à des doses très faibles en BPA s'observent aussi chez les enfants dont le lait maternel était contaminé par des pesticides et de la dioxine. À noter que le récepteur impliqué n'est pas exploré dans les tests in vivo classiques car de découverte récente.

En ce qui concerne les perturbations endocriniennes associées au métabolisme, plusieurs études établissent des liens entre une exposition à des PE et l'augmentation de l'incidence de l'obésité et du diabète de type II au cours de ces dernières décennies. Des effets au niveau des organes impliqués dans le métabolisme (cerveau, foie, muscle, pancréas, et tissu adipeux) sont décrits. Ces troubles métaboliques se répercutent aussi sur les glandes salivaires, affectant les fonctions endocrines (peptides biologiquement actifs) et exocrine (composition de la salive) et, en cascade, sur la santé buccale. Ainsi, chez le rat, le BPA est obésogène et diabétogène. Il perturbe les glandes salivaires et induit une sécheresse buccale. Or, sécheresse buccale et parodonties font partie des complications du diabète, de troubles thyroïdiens ou de désagréments de la ménopause. Il y aurait donc un intérêt à considérer des glandes salivaires comme cibles potentielles marqueur d'un effet PE dans les études de toxicologie.

Ces effets sur la sphère buccale concernent aussi les perceptions sensorielles. Par exemple, il existe un dimorphisme sexuel vis-à-vis de l'attraction pour le sucré ou le salé et la perception gustative. Les œstrogènes contrôlent le goût sucré, la progestérone le goût salé, mais aussi l'expression des bourgeons du goût. Le diabète pourrait être expliqué par une attraction exacerbée pour le goût sucré. Il n'y a ainsi plus de contrôle du goût sucré chez les diabétiques. Par ailleurs, les récepteurs gustatifs du goût sucré T1R2 et T1R3 sont exprimés dans la bouche, mais aussi de manière très spécifique dans certains organes périphériques, comme l'intestin, les testicules et le cerveau. L'effet des PE sur les glandes salivaires a fait l'objet d'une étude qui montre que la génistéine (phyto-œstrogène) et la vinclozoline (fongicide) agissent sur la préférence au sucré. Compte tenu du rôle des récepteurs gustatifs dans les régulations endocrines, on pourrait aussi se poser la question sur la relation éventuelle entre édulcorants et diabète.

Questions en suspens :

- les substances chimiques agissent-elles toutes en perturbateurs endocriniens ou en perturbateurs métaboliques ?
- quel sera l'impact des nouvelles habitudes sociales et de l'exposition aux PE naturels du fait de la consommation accrue de compléments alimentaires à base de plantes contenant des isoflavones (soja, trèfle, fenouil) ou autres composés agissant sur l'appareil reproducteur (terpènes et autres phyto-œstrogènes) ou thyroïdien par exemple
- quid des conséquences de l'engouement actuel pour l'utilisation d'huiles essentielles en cuisine ou bien-être alors que certaines contenant des terpènes (sauge, fenouil...) sont connues pour leurs effets sur la fertilité ou le métabolisme ?

Les Perturbateurs Endocriniens : Contribution de l'épidémiologie et causalité.

Luc MULTIGNER (INSERM, Rennes)

Cet exposé commence par une mise au point sur l'épidémiologie et sa méthodologie, ainsi que par une mise en garde sur les mauvaises pratiques et des interprétations simples et simplistes donnant lieu à des raccourcis conduisant à des conclusions erronées.

L'épidémiologie étudie les liens, sous forme statistique, entre l'exposition à un facteur (ex une substance chimique) et un évènement de santé dans une population. Mais il faut être prudent sur les conclusions en termes de causalité, ce qui dépend du type d'étude épidémiologique et de nombreux autres considérants. Un évènement de santé peut être produit par un ensemble de facteurs extérieurs variés.

Il convient également de se méfier des biais concernant la sélection des échantillons de populations étudiées et disposer d'un effectif adéquat. La situation optimale pour détecter un risque faible se situe entre 1000 et 3000 individus. Plus les effectifs sont faibles, plus les associations peuvent être dues au hasard et moins fiables sont les conclusions. Sur ces aspects, il n'existe pas de spécificité des PE.

Un autre biais dont il faut tenir compte est le classement des évènements de santé. Pour certains, il existe des changements dans le temps dans leur définition. De ce fait, les études peuvent ne pas être comparables dans le temps, car ce n'est pas exactement le même évènement qui est étudié. En termes d'évènements de santé, il n'existe pas de spécificité au regard des PE.

Les expositions sont toujours difficiles à estimer. Outre les problèmes de mesure (variabilité, spécificité et sensibilité), il faut que l'exposition mesurée précède l'évènement de santé. Enfin, l'idéal est la mesure pondérale des substances incriminées le plus près du site d'action (doses internes) et tenir compte de leur métabolisme (toxicodynamique et toxicocinétique). Pour les substances à courte demi-vie dans un organisme, la pertinence d'une mesure biologique unique (sauf en milieu professionnel lorsque la mesure est faite en fin de poste de travail) est généralement limitée. Enfin, la notion de « faibles doses » n'existe pas à proprement parlé. Dans les études épidémiologiques : il n'y a que des doses, qu'elles soient élevées ou faibles.

Concernant la forme des associations, il convient de noter que les associations non-monotones, dans le cadre des études épidémiologiques, sont très rarement observées.

Il faut aussi s'interroger sur la direction du sens de l'association (causalité réverse). Par exemple, une telle causalité réverse a été mise en évidence dans une étude récente (mars 2017) concernant l'association entre des atteintes de la fonction rénale et une ménopause précoce en lien avec des expositions à l'acide perfluorooctanoïque. En réalité, ce sont les atteintes de la fonction rénale et une ménopause précoce qui conduisent à une modification de la charge corporelle en acide perfluorooctanoïque et non l'inverse.

La possibilité d'associations protectrices est rarement évoquée. Pourtant, il se peut qu'un effet de santé positif soit la conséquence d'une exposition chimique. Par exemple, les PCB non « dioxin-like »⁴ présentent des modes d'actions communs à certaines substances réputées anti-cancéreuses et présentes dans les crucifères.

Notons donc qu'association n'est pas équivalent à causalité. La présence d'une association est nécessaire mais pas suffisante. Il faut toujours s'interroger sur la vraisemblance biologique des associations, compte tenu de l'état des connaissances.

En ce qui concerne spécifiquement les PE et d'un point de vue épidémiologique, pour l'instant et sauf quelques exceptions, il n'y a pas d'études convergentes démontrant une relation causale entre l'exposition à une substance par le biais d'un mode d'action hormonal et un évènement de santé. C'est notamment le cas pour le BPA.

Parmi les quelques certitudes, figure l'association causale entre le DES et l'adénocarcinome du vagin ou la survenue de malformations utérines. À noter que dans le cas du DES, il s'agissait d'une exposition massive (plusieurs grammes).

En matière de cancers, il y en a 3, seins, prostate et testicules, pour lesquels on dispose de bonnes études pour lesquelles on a des suspicions vis-à-vis de certains pesticides organochlorés présentant des propriétés hormonales, sans que pour autant la preuve formelle en soit apportée.

Concernant le cancer du sein, les multiples études et méta-analyses ont apporté des résultats contradictoires. Cependant, une étude de 2015 montre de manière plutôt convaincante qu'une exposition prénatale au DDT est associée à un risque accru de survenue d'un cancer du sein chez les filles à un âge avancé de la vie. À noter qu'il s'agissait d'exposition à des doses environnementales bien plus élevées que celles constatées de nos jours.

En ce qui concerne le cancer des testicules, des travaux suggèrent que son incidence augmenterait avec l'exposition au DDE (principal métabolite du DDT), alors que les expositions aux PCB non « dioxin-like » diminueraient le risque de survenue de ce cancer.

Le chlordécone, un autre organochloré présentant des propriétés hormonales, a été associé à un risque augmenté de cancer de la prostate, dans le cas d'une exposition à l'âge adulte (seuls les hommes de plus de 18 ans ayant pu être exposés du fait de l'introduction relativement récente du pesticide aux Antilles) tandis qu'un résultat protecteur a été observé avec les PCB non « dioxin-like ».

En conclusion, beaucoup d'études avec des défauts méthodologiques ne permettent pas pour autant d'aboutir à des conclusions fiables quand bien même elles concluraient de manière similaire. À ce sujet, les médias, et parfois certains scientifiques par des constructions intellectuelles transformant le possible en certitudes, concluent hâtivement. Il faut également prendre garde à ne pas instrumentaliser les études épidémiologiques pour d'autres objectifs que celui de la santé publique. Au niveau épidémiologique, les certitudes sur les effets des PE sont assez réduites. Il faut faire évoluer la problématique des PE d'une science du possible à une science de l'évidence.

⁴ Sous-ensemble de polychlorobiphényles (197 sur 209 congénères) qui présentent des mécanismes de toxicité différents de ceux des dioxines (par opposition aux 12 PCB « dioxin-like » dont les propriétés toxicologiques sont similaires à celles des dioxines).

À une question posée sur les publications traitant des coûts sanitaires imputables aux PE, Luc Multigner indique qu'il n'accorde pas de confiance à ces études, notamment parce que le calcul des fractions attribuables est très discutable, car basée sur des études trop sélectionnées à priori (il cite l'exemple du chlordécone aux Antilles auquel on ne peut attribuer qu'une vingtaine de cas de cancers de la prostate à l'exposition à ce pesticide sur 500 cas observés annuellement en Guadeloupe).

En réponse à une autre question sur un appel public d'obstétriciens et gynécologues (FIGO) pour l'arrêt de l'exposition des bébés et femmes aux produits toxiques et chimiques, Luc Multigner précise (sans porter de jugement sur cet appel spécifiquement) qu'il est légitime que la communauté médicale s'implique dans la prévention. Il reste cependant prudent concernant l'efficacité de certains relais médicaux car trop souvent il s'agit de promotion d'intérêts particuliers ou catégoriels, sans lecture critique des données existantes, ce qui aboutit à des jugements parfois hâtifs et mal pondérés.

Introduction à la table ronde. Le point de vue d'un toxicologue.

Jean-François NARBONNE (Université de Bordeaux)

Toxicologue, lanceur d'alerte depuis 40 ans (sur les dioxines, les PCB), son exposé met en évidence les progrès réalisés ces dernières années grâce aux interdictions de produits identifiés comme dangereux.

Pour Jean-François Narbonne, les effets de la pollution sur la santé ont été posés depuis plus d'un demi-siècle alors que la société ne s'est mobilisée sur le sujet que très récemment, du fait de l'évidence des impacts. Dès les années 60, le développement de l'écotoxicologie a permis de révéler dans un premier temps des effets affectant la santé et en particulier les fonctions de reproduction de nombreuses espèces animales, oiseaux, reptiles ou mammifères. Les principales substances impliquées étaient les composés organochlorés comme le DDT, la dieldrine et les PCBs. Chez l'homme les effets sanitaires attribués à cette pollution sont apparus plus tardivement (en particulier entre les années 80 et 2000) avec des élévations très importantes de l'incidence de nombreuses maladies comme les cancers (Entre 1978 et 2000, certains cancers ont connu des progressions importantes en France, mésothéliome +65%, thyroïde +4,8%, poumon +4,5%, mélanome +4,3%...)⁵. La pollution massive qui date des années cinquante avec un pic entre les années 60 et 80, a eu des conséquences sanitaires importantes (autisme, leucémie, maladies du cerveau...). L'information la plus médiatisée, en particulier dans le livre de Théo Colburn « Our Stolen Future » (traduction française : « Notre future volée ») est la diminution de la fertilité (réduction de la motilité et de la viabilité des spermatozoïdes) de l'ordre de 50% chez les hommes (entre 1940 et 1990). Dans les années 90 on a observé une « épidémie d'obésité » que le corps médical attribuait à la « malbouffe », mettant à l'index les sodas sucrés et stimulant le développement des produits light par l'industrie agro-alimentaire. À l'époque, pour les Autorités "la pollution n'existait pas", l'augmentation spectaculaire de l'espérance de vie servant d'argument rassurant. En fait, les impacts santé n'étaient pas réellement mesurés puisque d'un côté les autorisations réglementaires se basaient sur des protocoles d'évaluation relativement

⁵ A noter que depuis, un ralentissement de ces progressions est noté, voire une stagnation ou même une diminution pour certaines localisations.

limités et que d'autre part la toxico-vigilance était pour le moins embryonnaire. Il a fallu attendre les années 2000 avec la création des Agences Sanitaires et de l'InVS pour que les moyens mis à la disposition des évaluateurs de risques soient significatifs. En effet, les tests réglementaires ne pourront jamais prévoir tous les impacts sur la santé et l'environnement, il faut donc compléter cette phase initiale d'évaluation par des études de terrain incluant non seulement l'épidémiologie classique mais aussi de l'épidémiologie moléculaire mesurant les biomarqueurs d'exposition de susceptibilité et d'effet.

Si les alarmes lancées par de nombreux scientifiques dès les années soixante ont été largement ignorées par les autorités sanitaires et des médias, des mesures d'interdiction et de restriction d'usage ont été prises dès le début des années soixante-dix. Les produits les plus dangereux et les plus présents dans l'environnement ont été écartés au fur et à mesure des résultats des études. Après les interdictions et limitations drastiques des années 70 sur les pesticides organochlorés, les PCBs et certains métaux (Hg, Cd, Pb) de très nombreux pesticides ont été progressivement interdits (Lindane, bénomyl, linuron, atrazine, vinchlozoline, carbofuran, carbaryl, paraquat...). Ces mesures restrictives ou d'interdiction concernaient aussi les PE du fait qu'ils étaient souvent classés comme CMR.

Les effets cancérigènes et reprotoxiques sont caractéristiques des potentialités toxiques des PE. Des centaines de substances considérées comme PE ont déjà été interdites ou fortement limitées. Par exemple, les scientifiques de l'AFSSET avaient classé, en 2007, les substances ayant un effet reprotoxique et une exposition forte préoccupante pour la santé publique. Les trois premières substances ayant des effets/exposition importants étaient des phtalates. À l'inverse, le BPA qui a un potentiel PE comparable présente une exposition beaucoup plus faible et figurait donc à la 27^{ème} place. Dans l'ensemble, les mesures de prévention prises à partir des années 1970, se sont montrées efficaces, entraînant dans les pays concernés une diminution spectaculaire des pollutions dans l'environnement et chez l'homme. Par exemple, les émissions de contaminants atmosphériques en France ont diminué de 50 à 98 % depuis 1990. Les teneurs en POP dans l'environnement (poisson, oiseaux...) ont baissé de l'ordre de 2 à 10% par an à partir du milieu des années soixante-dix et elles ont aussi diminué dans le sang humain de 50 à 95 % sur la période 1990 – 2008. Pour les pesticides, nous sommes passés de 1 300 molécules de matières actives autorisées il y a 20 ans à 450 aujourd'hui. Dans les cours d'eau de France métropolitaine, on note entre 2008 et 2013 une diminution de 25 % des teneurs en substances interdites et pour les eaux traitées dans les stations de l'Île-de-France on observe une chute de 60 % des teneurs en pesticides.

Ceci s'est traduit à partir des années quatre-vingt-dix par une restauration progressive des fonctions de reproduction chez des espèces en bout de chaîne alimentaire comme les oiseaux rapaces, les loutres ou les phoques. Par exemple, le taux de fécondité chez les phoques gris de la Baltique était proche de zéro en 1970 était passé à 100% en 2010. En fait, après les limitations et les interdictions d'utilisation des PCPs et des PCBs il a fallu un délai de 15 ans pour voir les premiers signes d'amélioration de la fécondité de ces mammifères marins (Mehran, 2016). Chez l'homme, c'est à partir des années 2000 que l'on constate une amélioration dans l'incidence de nombreux effets santé. Par exemple les taux de mortalité en France ont baissé entre 2000 et 2008 de 1,5% pour le cancer du foie, de 13% pour le diabète et de 30% pour les cardiopathies et maladies cérébro-vasculaires. Plusieurs études au Danemark et en France montrent une stabilisation de la dégradation de la qualité du sperme à partir des années quatre-vingt-dix et une restauration de l'ordre de 6 à 8% par an à partir du milieu des années 2000. Il est étonnant que ces indications montrant une baisse importante des pollutions environnementales depuis quarante ans et une amélioration significative consécutive de nombreux

indicateurs de santé **au cours de la dernière décennie** ne soient pas diffusées plus largement auprès du corps médical et du public.

Aujourd'hui, l'attention des pouvoirs publics est plus portée sur les ONG militantes plutôt que sur les scientifiques, qui ne sont pas entendus. Ainsi le mot de *perturbateur endocrinien* inventé il y a plus de 20 ans pour désigner une grande famille de composés dont la plupart étaient connus depuis un demi-siècle, apparaît comme une *nouvelle menace* pour la santé publique. En 2015 au congrès Eurotox réunissant 2500 toxicologues, les conclusions de la session sur les PE ont été que les PE ne sont pas des produits à part, la perturbation endocrinienne n'étant qu'un des nombreux mécanismes d'action des substances toxiques. On progresse sur le décodage des processus d'interactions hormonales comme sur d'autres mécanismes, par exemple sur l'action des radicaux libres ou des modulations de l'apoptose. Ces effets sont aussi soumis aux problèmes de non linéarité et des faibles doses qui ne sont absolument pas spécifiques des PE. Une grande partie des effets sanitaires liés aux PE est déjà prise en compte dans les études de toxicologie actuelles (cancérogénèse, reprotoxicité, développement...). Les propos de ces scientifiques n'ont pas été repris dans les médias, mais le message a été dévoyé car on l'a attribué à une *dizaine de scientifiques à la solde des lobbies industriels*. En fait, on fait passer pour un nouveau problème ce qui n'est que l'évolution des connaissances sur les mécanismes d'action moléculaires.

L'autre problème concerne l'aspect réglementaire, car à vouloir faire des PE une classe de *toxiques à part*, il y a une demande pour créer une *réglementation à part* en particulier pour les pesticides et les biocides. La réglementation se base historiquement sur la notion de bénéfice-risque, or on demande aujourd'hui une interdiction de PE, sur la base du danger. D'où l'importance accordée à la définition d'un PE qui reste encore aujourd'hui floue, ce qui ouvre la porte à toutes les interprétations. En effet, les familles de substances éventuellement concernées par la réglementation varient fortement en fonction de la définition des PE. C'est là que science et politique se mélangent, certaines ONG voudraient que la définition des PE soit un outil de lutte contre les produits chimiques fabriqués par les grandes sociétés capitalistes (voir les attaques sur Monsanto, Bayer ...). Ceci est très en vogue dans les milieux *populistes* et en accord avec les théories *complotistes*. Par contre, le scientifique mettra en premier les effets PE de nombreuses substances naturelles comme les phyto-estrogènes ou des huiles essentielles, mais ceci irait à l'encontre de la mode végétarienne très en vogue aujourd'hui dans les médias. Ceci irait aussi à l'encontre du dogme selon lequel les substances naturelles ne seraient pas toxiques, ou le seraient moins que les substances issues de la chimie de synthèse. On peut simplement donner comme exemple le fait qu'il y a eu depuis l'année 2000, 1400 hospitalisations pour cause de contact avec des huiles essentielles, ou que les extraits de soja sont utilisés comme substituts de traitements hormonaux de la ménopause. D'après les données de l'ANSES, l'exposition journalière moyenne des populations en France se situe à 244 µg pour les pesticides et à 510 µg pour les phyto-estrogènes (elle est beaucoup plus forte chez les végétariens et les végans). Pourtant ces substances ne sont pas réglementées, alors que les tests montrent que la substitution partielle des matières animales par des protéines de soja entraîne une très forte élévation du potentiel PE des préparations. L'ANSES avait d'ailleurs recommandé l'étiquetage de la quantité de phytoestrogènes présents dans les préparations végétales, ce qui n'a pas été suivi par les gestionnaires sous la pression du lobby végétarien et végan.

En conclusion, il est suggéré :

- d'adapter et développer des tests toxicologiques mieux adaptés aux PE, notamment en tenant compte des fenêtres d'exposition.

- de développer les mesures de potentiels PE des substances ou des cocktails par des bio-essais.
- de classer les PE selon les systèmes de classement des cancérogènes (organisme dédié comme le CIRC).
- de séparer ainsi le classement des produits de l'évaluation des risques.
- d'étendre la biosurveillance avec des biomarqueurs d'exposition pertinents qui permettent de mieux relier l'exposition et les effets par quantification des doses d'exposition et la connaissance des cocktails.

Par ailleurs, la focalisation des pouvoirs publics sur les PE ne doit pas faire oublier des problèmes émergents :

- surconsommation médicamenteuse et ses conséquences sur la pollution de l'environnement
- consommation de drogues illicites
- augmentation des comportements à risque (tabagisme, tatouage)
- expositions aux champs électromagnétiques et radiofréquences (objets connectés)

Quels enjeux pour l'Industrie manufacturière ? Le point de vue d'un utilisateur de matériaux

Philippe ROLLAND (Renault, Guyancourt)

L'objectif de Renault est de concevoir des voitures saines en intégrant les propriétés sanitaires et environnementales. Il est donc nécessaire de pouvoir identifier les PE avant de pouvoir les remplacer par des substances plus saines pour la santé et l'environnement.

La conception d'une voiture se fait très en amont en tenant compte de listes de substances problématiques à éviter. Les cahiers des charges des pièces automobiles doivent tenir sur 20 ans sans être obligé de remplacer ces pièces en cours de production. Il y a donc besoin d'une définition scientifique robuste des PE avec des tests reconnus scientifiquement et juridiquement afin de permettre une anticipation raisonnée du remplacement des substances problématiques par des substances meilleures. À titre d'exemple, les cahiers des charges pour la nouvelle Clio sont partis en 2015 en interdisant une centaine de substances (non encore interdites sur le plan réglementaire), sachant que la fin de l'après-vente est prévue en 2035.

Pour sélectionner les substances problématiques à éviter, il est donc nécessaire de passer en revue et classer les 10000 à 14000 substances utilisées dans les pièces des automobiles (dont environ 3000 sont réglementées dans le monde). Le classement est fait en 4 cadrans selon le risque d'interdiction réglementaire plus ou moins proche et la possibilité technique de substitution.

Par le passé, les cas de substitution n'ont pas toujours été probants. L'exemple des phtalates remplacés dès 2009 au fil de l'eau est plutôt une réussite (remplacement du DEHP par le DINP, puis par le DIDP qui sont des phtalates assez proches pour aboutir enfin au DINCH qui n'est plus un phtalate et semble sans problème). Par contre pour les retardateurs de flamme, le DecaBDE a été remplacé par l'EBP mais celui-ci est peu étudié et il existe donc un risque latent.

Dans le cas du BPA, qui est utilisé majoritairement comme plastifiant dans le polycarbonate (plastique transparent utilisé pour les phares notamment) mais aussi dans d'autres domaines (peintures époxy, etc.) et qui risque d'être interdit d'utilisation dans un avenir proche, comment le remplacer ? Par d'autres bisphénols qui ne sont pas classés aujourd'hui, mais peut être mal connus ? Ou faut-il remplacer le polycarbonate par du polyméthacrylate ou du verre, chacun ayant ses qualités et ses défauts qui impactent la qualité et le coût d'un véhicule ?

En conclusion, les industries manufacturières qui ont des cycles de conception longs, ont besoin d'avoir de la visibilité à long terme de la part des scientifiques sur les propriétés des substances et des Autorités sur l'utilisation de ces substances du point de vue réglementaire. Il faut que le processus de décision, en vue de l'interdiction/substitution prenne en compte les parties prenantes.

Table Ronde

Comment aider Philippe Rolland ?

Rappel de la Conférence annuelle de l'ECHA à Helsinki sur le règlement REACH en 2018. Toutefois, pour *Philippe Rolland*, REACH est un outil intéressant car c'est un processus scientifique mais il ne répond pas totalement à la question.

Quid des métaux ? Le cadmium perturbe tous les récepteurs, et personne n'en parle. Idem pour le mercure et le plomb. Dès que des mesures de réduction ont été prises, le Plomb a diminué et le QI des enfants commencerait à remonter. Par contre, qu'en est-il du mercure dans les amalgames dentaires ?

Réponse et commentaires de *Jean-François Narbonne* :

Les métaux sont sur la liste des substances à traiter en priorité. Malheureusement les écologistes ont incité à utiliser des lampes basse consommation qui contiennent du mercure, ce qui expose massivement l'environnement et les populations.

Les problèmes liés aux PE sont en grande partie réglés alors que les vrais problèmes augmentent de façon exponentielle : contamination médicamenteuse, drogues illicites, tatouages, augmentation des radiofréquences partout dans les produits connectés.

Le problème vient aussi de la possibilité technique de faire des analyses plus fines qui détectent des substances partout à très faibles doses. Le public a une vraie inquiétude car il n'est pas en mesure d'évaluer la portée véritable des contaminations observées. Le problème est souvent gonflé par les médias.

Quelle est la pureté des substances testées ? Il y a des résidus en faible quantité dans les substances.

Alain Lombard indique que dans les études toxicologiques, nous essayons d'utiliser le produit le plus pur disponible. Toutefois pour les produits utilisés dans des processus industriels, nous utilisons le produit le plus représentatif du marché. Cela pose effectivement le problème des impuretés liées au procédé de production, qui peuvent influencer sur le résultat de l'étude.

Retour sur le cas du BPA dans le polycarbonate (cf. phares de voiture).

Il est d'abord précisé que les polymères ne sont pas classés SVHC par REACH et donc que le BPA ne devrait pas être interdit dans cette utilisation.

Il faut se poser la question de l'exposition aux produits avant de prendre une décision de substitution. Par exemple, il n'y a pas de contact possible du consommateur avec les phares de voiture. Le problème se pose uniquement pour le recyclage des phares.

Quid de la théorie des faibles doses et des courbes dose-réponse non monotones ?

Jean-Pierre Cravedi précise que le rapport de l'EFSA a identifié quelques articles publiés qui montrent des courbes dose-réponse non monotones. Le fait de ne pas avoir de dose-réponse non monotone ne permet pas d'expliquer l'existence d'effet plus important à dose plus faible qu'à dose moyenne.

En complément, *JP. Cravedi* indique que s'intéresser à un effet PE d'une substance alors que l'on sait que la substance est un cancérigène bien établi n'a pas de sens pour la santé publique. C'est le cas de l'arsenic ou du benzo-a-pyrène mais aussi des métaux dont le plomb, le mercure et cadmium pour lesquels les seuils de toxicité sont inférieurs aux effets PE potentiels. Le plomb est un neurotoxique, mais on ignore si la diminution de QI est liée à la neurotoxicité ou aux effets PE.

JF. Narbonne ajoute qu'en contrepartie les PCB non « dioxin-like » ont un effet sur le diabète en premier par rapport aux effets cancérigènes. Il cite aussi le cas de l'augmentation de l'obésité chez les femmes après la guerre du fait de la cigarette dont l'influence est supérieure aux autres expositions.

Quid de la dégradation du comportement des enfants depuis 30 ans (manque de concentration, hyperactivité) ?

Jean-François Narbonne répond que, plutôt que les PE, il faut se poser la question de l'effet des médicaments tels que les antidépresseurs sur l'autisme. *Marie-Chantal Canivenc* mentionne aussi le rôle des ondes et les écrans.

Quid de l'apparition de label sans PE ? Valeur scientifique de ces labels ?

Pour *Alain Lombard*, s'arrêter sur une liste et faire que la présence d'un produit soit associée à un risque est une erreur. Des industriels, notamment les industries cosmétiques, sont soumis aux pressions des associations et des consommateurs pour qui : présence = danger = risque, ce qui est un raccourci trop rapide. Il faut se poser la question de l'exposition réelle et caractériser le risque encouru.

Un représentant du laboratoire Wachfrog insiste sur le savoir-faire français et l'expertise scientifique de nos chercheurs, qui ont développé des méthodes validées, ou en passe de l'être, pour l'évaluation des PE. Sur le plan quantitatif, on pourrait utiliser la notion d'équivalent hormonal qui oriente vers la puissance des PE. Par ailleurs, une Plateforme méthodologique d'évaluation des PE est en cours de développement autour de l'INERIS.

Quid de la validation du test XETA® ?

Le représentant du laboratoire Watchfrog indique qu'il y a un consensus des évaluateurs nationaux sur des méthodes en cours de validation sur trois axes, oestrogénique, androgénique et thyroïdien, qui permettent d'évaluer le potentiel endocrinien des échantillons testés.

Quid des cosmétiques et des questionnements des associations (exemple de proclamation de produits sans parabènes) ? Comment se défendre, car cette industrie n'a pas le droit de tester sur animaux ?

Claude Monneret répond que l'Académie de Pharmacie a étudié la question et conclu qu'il n'y avait pas de danger pour les parabènes utilisés dans les médicaments et le problème a été résolu. Il précise que les parabènes sont indispensables pour garantir

la qualité bactériologique des préparations. Pour lui, il faut se méfier des substitutions hâtives car il y a souvent déplacement du danger (par exemple : la substitution des parabènes par du méthylchloroisothiasolinone, produit allergisant important connu depuis 1980).

Claude Monneret ajoute que l'arrêt des essais chez l'animal serait une catastrophe. Les trois académies de Sciences, de Pharmacie et de Médecine ont fait une pétition pour garder les études « in vivo », tout en respectant des conditions éthiques vis-à-vis de l'animal. Les études « in vitro » sont un progrès mais ne permettent pas une évaluation complète des propriétés toxicologiques d'une substance.

Pour *Alain Lombard*, il y a aussi un problème de définition des cosmétiques par rapport à la question de pénétration dans la peau, qui fait penser à de la dermatopharmacie soumise à des tests de sécurité plus stricts. Il ajoute que pour avoir une idée du pouvoir PE des cosmétiques, il est possible de faire des tests sur organismes de substitution comme les embryons de poissons et de batraciens, qui ne sont pas considérés comme des animaux à ce stade de développement.

Pour *André Picot*⁶, il faudrait améliorer les recherches sur les aspects PE des éléments minéraux. Il cite l'exemple de l'autisme qui serait lié à 50% à la génétique et à 50% à l'environnement, notamment le mercure et le plomb. Dans d'autres études chez les assistantes dentaires, il a été montré une corrélation de l'incidence de glioblastomes avec le mercure qui se concentre dans l'hypophyse.

En réponse, *Luc Multigner* s'interroge sur le fait de focaliser la problématique sous l'angle PE. Pour lui, que le plomb et le mercure soient des PE passe en second par rapport à leur problématique toxique, car c'est une question de mode d'action. Il trouve aussi qu'il y a un décalage dans les priorités et qu'il faudrait d'avantage s'intéresser au milieu professionnel où l'exposition est plus importante par rapport à la population générale.

Jean-François Narbonne ajoute que le plomb des amalgames dentaires a été remplacé par des résines contenant du BPA, ce qui n'est guère mieux.

Conclusions de tous les intervenants

La problématique des PE reste très complexe.

Pour *Nicolas Creusot*, il faut mettre en avant la caractérisation de l'exposition, notamment aux mélanges complexes environnementaux.

Pour *Marie-Chantal Canivenc*, il faut communiquer sur les comportements alimentaires et les risques associés : surdosages pour les PE d'origine végétale via les compléments alimentaires ou les huiles essentielles en usages culinaires (cocktails de PE), consommation de PE de synthèse (pesticides, BPA, phtalates, conservateurs, colorants...)

⁶ Toxicochimiste, président de l'ATC, Association Toxicologie Chimie.

via des produits de longue conservation (conserves, emballages sous vide, etc...) et au détriment de produits frais et locaux.

Jean-Pierre Cravedi insiste sur la difficulté de communiquer sur le sujet des PE, car la presse est très orientée ce qui trouble le consommateur. Il faut que les scientifiques communiquent d'avantage et essayent d'aider le citoyen à sortir de l'irrationnel en communiquant sur les recherches scientifiques sérieuses.

Philippe Rolland insiste sur le fait que les Industriels ont besoin d'avoir des informations simples et sans équivoque.

Pour *Jean-François Narbonne*, il faut développer la biosurveillance sur les cocktails, car l'homme est naturellement exposé à des mélanges, notamment via l'alimentation. Selon le type d'alimentation, il insiste sur le cas des mycotoxines et autres phytoestrogènes et rappelle qu'en comparaison, les pesticides sont en quantités très faibles.

Conclusions sur la problématique Perturbateurs Endocriniens

Claude MONNERET (Académie Nationale de Pharmacie, Paris)

Son exposé reprend tous les thèmes qui ont été développés au cours de cette journée.

À noter :

Le problème de la définition des PE au niveau européen.

Les multiples mécanismes d'action et les nombreuses cibles.

La problématique des effets non-monotones et des effets transgénérationnels en insistant sur le fait que le DES était utilisé quotidiennement et à forte dose chez les femmes enceintes, ce qui le différencie de la plupart PE.

Ne pas se précipiter sur les substitutions sans certitude scientifique de l'innocuité du substitut.

Les méthodes « in vivo » de caractérisation des dangers des substances sont les plus pertinentes car elles reflètent l'homéostasie de l'organisme entier.

Il est à déplorer que la parole d'un journaliste ait plus de poids sur des sujets scientifiques qui le dépassent que celle d'un scientifique.

Parmi les problèmes émergents dans la population celui des tatouages est un réel problème.

L'Académie de Pharmacie est intéressée par l'initiative des « 1000 jours de l'OMS » qui consiste à suivre les femmes enceintes au cours de leur grossesse ainsi que leur enfant jusqu'à la fin de leur deuxième année.

Conclusion générale du Comité d'Organisation

Cette journée a permis de faire le point sur les connaissances actuelles en matière de perturbation endocrinienne. Elle a bien montré la complexité du sujet du fait de la diversité des mécanismes d'action et du grand nombre de récepteurs et de cibles biologiques. Au-delà de la définition des Perturbateurs Endocriniens, la question est donc plutôt de bien définir les tests indispensables à l'identification des propriétés de perturbation endocrinienne. C'est un domaine où la recherche reste absolument nécessaire puisqu'on découvre régulièrement de nouveaux mécanismes et de nouvelles cibles.

Bien entendu, cela doit aussi inciter à poursuivre les recherches pour mieux identifier les cibles biologiques éventuelles des Perturbateurs Endocriniens, mieux comprendre les mécanismes d'action (notamment identifier et confirmer les cas où la relation dose-effet n'est pas monotone aux plus faibles doses) et développer des tests (ainsi que des stratégies de tests) en particulier sur des organismes entier (in vivo) permettant d'identifier les molécules ayant des propriétés de perturbations endocriniennes (par exemple alors qu'elles sont encore en développement).

Ce sont des effets sur différentes espèces de l'environnement qui ont été mis en évidence bien avant que des effets sur l'homme soient évoqués (hormis le cas particulier du diéthylstilbestrol puisqu'il s'agit d'un médicament fait pour avoir une action sur le système endocrinien qui a été prescrit à forte dose). Aujourd'hui, si des effets sur l'environnement sont avérés, ceux sur l'homme sont plutôt de l'ordre du plausible ou du probable. Concernant les études épidémiologiques, il est nécessaire de bien caractériser les niveaux d'exposition, mais aussi de prendre en compte la possibilité d'expositions multiples (effect cocktail) et d'avoir des cohortes d'études suffisamment grandes pour limiter les biais d'interprétation.

Cela ne doit néanmoins pas empêcher de prendre des mesures réglementaires adéquates et adaptées à la gestion du risque (intégrant le niveau d'exposition potentielle aux substances) à éviter et non exclusivement à la notion de danger de ces substances (indépendamment de l'exposition potentielle).

Il faut toutefois noter que de nombreux PE, tels que des pesticides organochlorés ou le diéthylstilbestrol, ont déjà fait l'objet de dispositions réglementaires spécifiques bien avant que la notion même de perturbation endocrinienne soit sur le devant de la scène et évoquée dans la réglementation. Enfin, certains scientifiques s'interrogent sur la prééminence de l'effet des Perturbateurs Endocriniens par rapport à d'autres dangers pour la santé publique.

Abréviations

- AFSSET** : Agence Française de Sécurité Sanitaire de l'Environnement et du Travail (devenue ANSES en 2012)
- ANSES** : Agence Nationale de Sécurité Sanitaire, de l'Alimentation, de l'Environnement et du Travail
- BPA** : Bisphénol A
- BPL** : Bonnes Pratiques de Laboratoire
- CIRC** : Centre International de la Recherche sur le Cancer
- CMR** : Cancérogènes, Mutagènes et toxiques pour la Reproduction
- DDE** : Dichlorodiphényldichloroéthylène (métabolite du DDT)
- DDT** : Dichlorodiphényltrichloroéthane (insecticide organochloré)
- DecaBIDE** : Decabromodiphenyl ether
- DEHP** : Diethylhexyl phtalate
- DES** : Diéthylstilbestrol (principe actif du distilbène)
- DIDP** : Didecyl phtalate
- DINCH** : 1,2-Cyclohexane dicarboxylic acid diisononyl ester
- DINP** : Diisononyl phtalate
- DJA** : Dose Journalière Admissible DIDP
- EBP** : Decabromodiphenyl ether
- ECETOC** : European Center for Ecotoxicology and Toxicology of Chemicals
- ECHA** : European Chemicals Agency: Agence Européenne des Produits Chimiques
- EFSA** : European Food Security Authority
(autorité européenne de sécurité des aliments)
- EGF** : Epidermal Growth Factor
- INERIS** : Institut National de l'Environnement Industriel et des Risques

Abréviations

INRA :	Institut National de la Recherche Agronomique
INSERM :	Institut National de la Santé et de la Recherche Médicale
InVS :	Institut de Veille Sanitaire
IRCM :	Institut de Recherche en Cancérologie de Montpellier
IRSET :	Institut de Recherche en Santé, Environnement et Travail
NGF :	Nerve Growth Factor
OCDE :	Organisation de Coopération et de Développement Économique (organisation regroupant 35 pays et dont le siège est à Paris)
OMS :	Organisation Mondiale de la Santé
PCB :	Polychlorobiphényle(s)
PCP :	Polychlorobiphényle(s)
PE :	Perturbateurs Endocriniens
PFC :	Perfluorocarbons
PFOA :	Perfluorooctyl acid
POP :	Persistent Organic Pollutants
SNC :	System Nerveux Central
SVHC :	Substance of Very High Concern (substance hautement préoccupante, selon le règlement REACH)
REACH :	Registration, Evaluation and Authorisation of Chemicals (règlement européen sur les produits chimiques)
RN :	Récepteur nucléaire
TGFC :	Transforming Growth Factor Cytokine
US-EPA :	United States Environmental Protection Agency (agence de protection de l'environnement américaine)

Maison de la Chimie
28 rue Saint Dominique 75007 PARIS