

Adebiotech – 13 et 14 Mars 2018

# Etude des altérations épigénétiques induites par les polluants chimiques environnementaux dans le cerveau immature : mise au point de stratégies *in vitro*

Margaux Séchet<sup>1</sup>, Juliette van Steenwinckel<sup>2,3</sup>, Pierre Gressens<sup>2,3</sup>,  
Olivier Laprévôte<sup>1</sup>, Anne-Laure Schang<sup>1</sup>

<sup>1</sup> UMR CNRS 8638-Chimie Toxicologie Analytique et Cellulaire, Université Paris Descartes, Sorbonne Paris Cité, Faculté de Pharmacie de Paris, 75006 Paris

<sup>2</sup> PROTECT, INSERM, Université Paris Diderot, Sorbonne Paris Cité, 75019 Paris ; <sup>3</sup> PremUP, 75006 Paris



FACULTÉ  
DE PHARMACIE  
DE PARIS

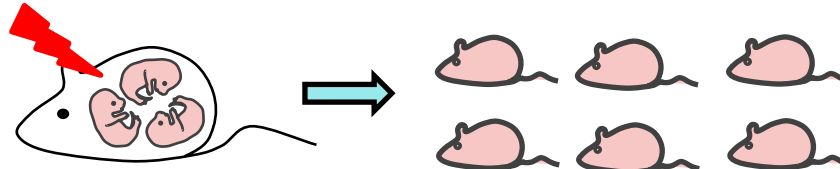


## Contexte et Objectif

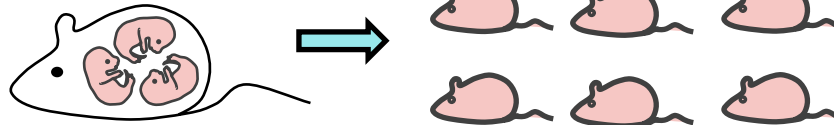
Troubles neuro-développementaux → >10% des enfants dans le monde  
*déficits sensorimoteurs, cognitifs, d'apprentissage, de l'attention ou encore les troubles du spectre autistique*  
Incidence ↗ ↗ → impact des polluants chimiques de l'environnement ? Preuves ?

Etudes *in vivo* longues, coûteuses → effets modérés, retardés

**+ Polluant  
chimique**



**(Non exposés)**



# Contexte et Objectif

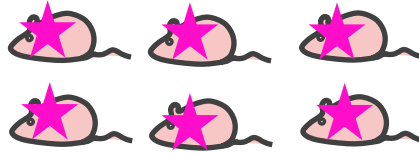
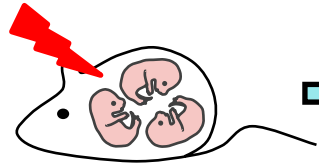
Troubles neuro-développementaux → >10% des enfants dans le monde

déficits sensorimoteurs, cognitifs, d'apprentissage, de l'attention ou encore les troubles du spectre autistique

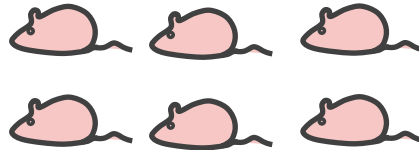
Incidence ↗ ↗ → impact des polluants chimiques de l'environnement ? Preuves ?

Etudes *in vivo* longues, coûteuses → effets modérés, retardés

+ Polluant  
chimique



(Non exposés)



**altérations  
épigénétiques**  
mémoire moléculaire des  
expositions précoces

# Contexte et Objectif

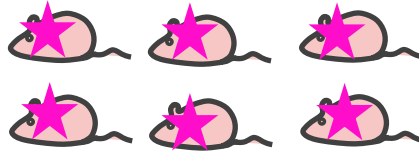
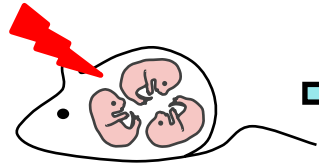
Troubles neuro-développementaux → >10% des enfants dans le monde

déficits sensorimoteurs, cognitifs, d'apprentissage, de l'attention ou encore les troubles du spectre autistique

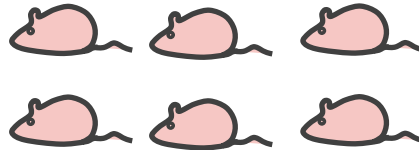
Incidence ↗ ↗ → impact des polluants chimiques de l'environnement ? Preuves ?

Etudes *in vivo* longues, coûteuses → effets modérés, retardés

+ Polluant  
chimique



(Non exposés)



altérations  
épigénétiques

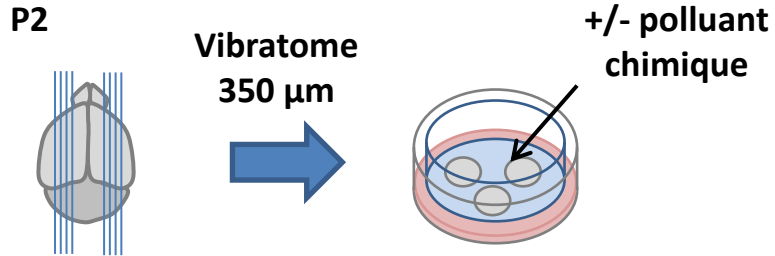
mémoire moléculaire des  
expositions précoces

**Objectif** : améliorer l'évaluation de la toxicité neuro-développementale de ces polluants  
stratégies *in vitro* /analyses épigénétiques

# Modèles

## Cultures organotypiques murines

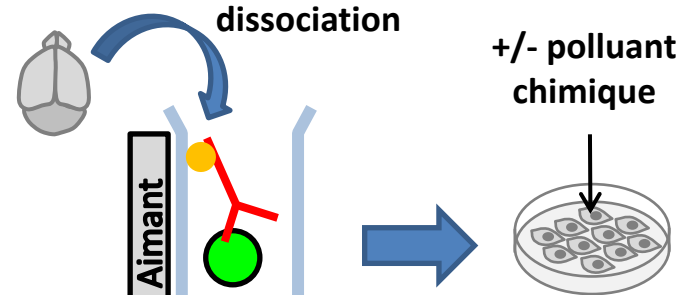
- Conserver l'architecture du parenchyme cérébral
- Maintenir les dialogues intercellulaires (neurones – glie)



Tranches à l'interface liquide-air  
Continuent de se différencier  
Maintenues plusieurs jours/semaines

## Cultures primaires

- Analyser les effets directs sur un type cellulaire



CD11b+ = microglie

PDGFR+ ou O4+ = Oligodendrocytes

ACSA2 = Astrocyte

MACS technology (Miltenyi) – Inserm PROTECT

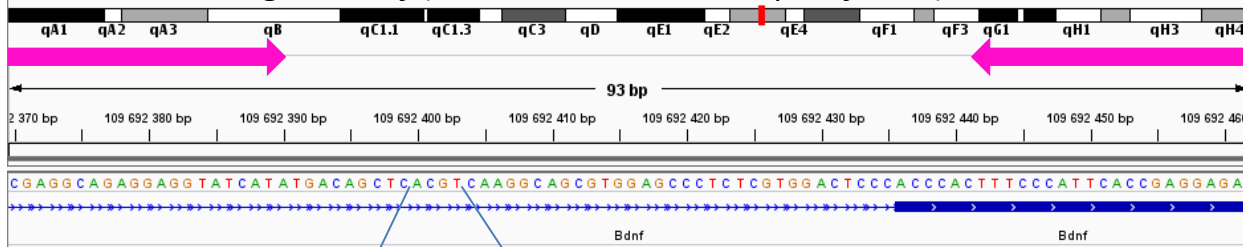
## Impacts cellulaires (exemples)

- Dosages dans le milieu de culture (cytokines pour évaluer la réponse inflammatoire)
- Extraction d'ARN → modifications de la transcription de gènes-clé du développement cérébral (ex: *Bdnf*)
- Mémoire moléculaire → mécanismes épigénétiques

# Altérations épigénétiques

## Exemple : enzymes de restriction sensibles à la méthylation

Chromosome 2, gène *Bdnf* (*Brain derived neurotrophic factor*)



ACGT  
TGCA

HpyCH4IV



A CGT  
TGC A

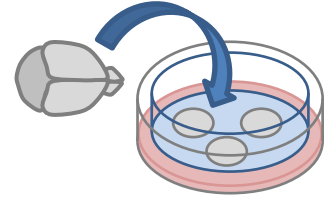
ADN clivé  
ADN (qPCR) √



STOP

A mCGT  
TGCm A

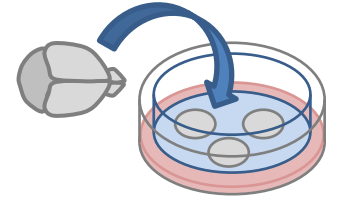
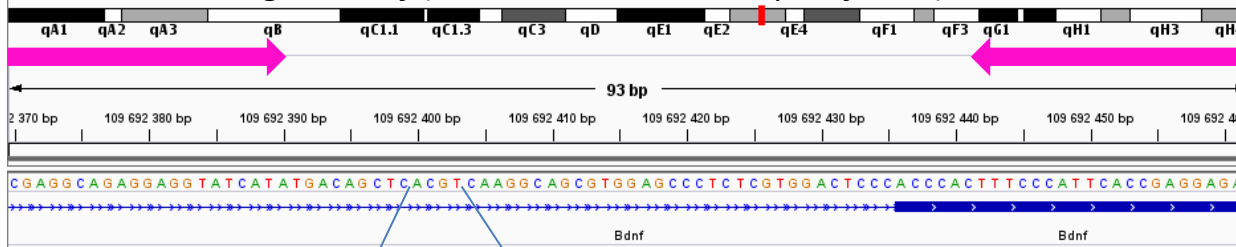
ADN méthylé  
= protégé de la coupure



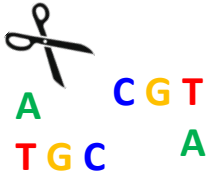
# Altérations épigénétiques

Exemple : enzymes de restriction sensibles à la méthylation

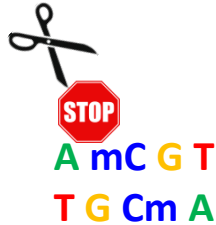
Chromosome 2, gène *Bdnf* (Brain derived neurotrophic factor)



HpyCH4IV

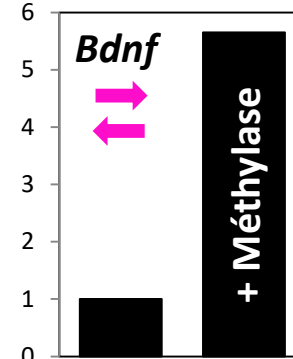


ADN clivé  
ADN (qPCR) ∩



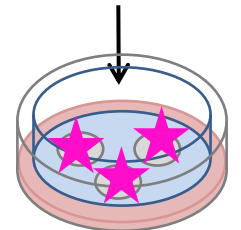
ADN méthylié  
= protégé de la coupure

Quantité relative d'ADN amplifié  
après digestion enzymatique



Validation

+/- polluant  
chimique



Applications

# Conclusion

## Intérêts de l'étude

- Améliorer l'évaluation des impacts des polluants chimiques dans le cerveau immature
- Tester des combinaisons de polluants (« effet cocktail »)
- Mécanismes épigénétiques : comprendre les effets retardés, augmenter la sensibilité de la méthode

## Perspectives

- Criblage *in vitro* → réaliser des études *in vivo* ciblées
- Conservation des mécanismes de toxicité entre espèces ?  
→ valider sur matériel humain
- Appliquer ces méthodes à l'analyse d'autres organes-cibles de ces polluants au cours du développement (exemple : placenta)

