

Les Perturbateurs Endocriniens des Textes aux Tests

colloque Perturbateurs Endocriniens : Enjeux industriels, de
santé et d'environnement.
Adebiotech Ineris

Le 8 Juillet 2014

Robert Barouki

INSERM UMR-S 1124

Toxicologie Pharmacologie et Signalisation Cellulaire
Service de Biochimie MP Hôpital Necker Enfants malades
Université Paris Descartes

Il n'y a pas de toxicité

Il n'y a que des preuves de toxicité



Définitions

Environnement

✓ l'environnement c'est tout ce qui n'est pas moi

✓ définition très large :

Environnement = tout ce qui n'est pas génétique
inclut comportement, alimentation, tabagisme actif, alcool ...

✓ définition plus restrictive:

Environnement = essentiellement ce qui est subi
pollution, tabagisme passif, contamination alimentaire...

Selon la définition, la part de l'environnement en pathologie
change considérablement

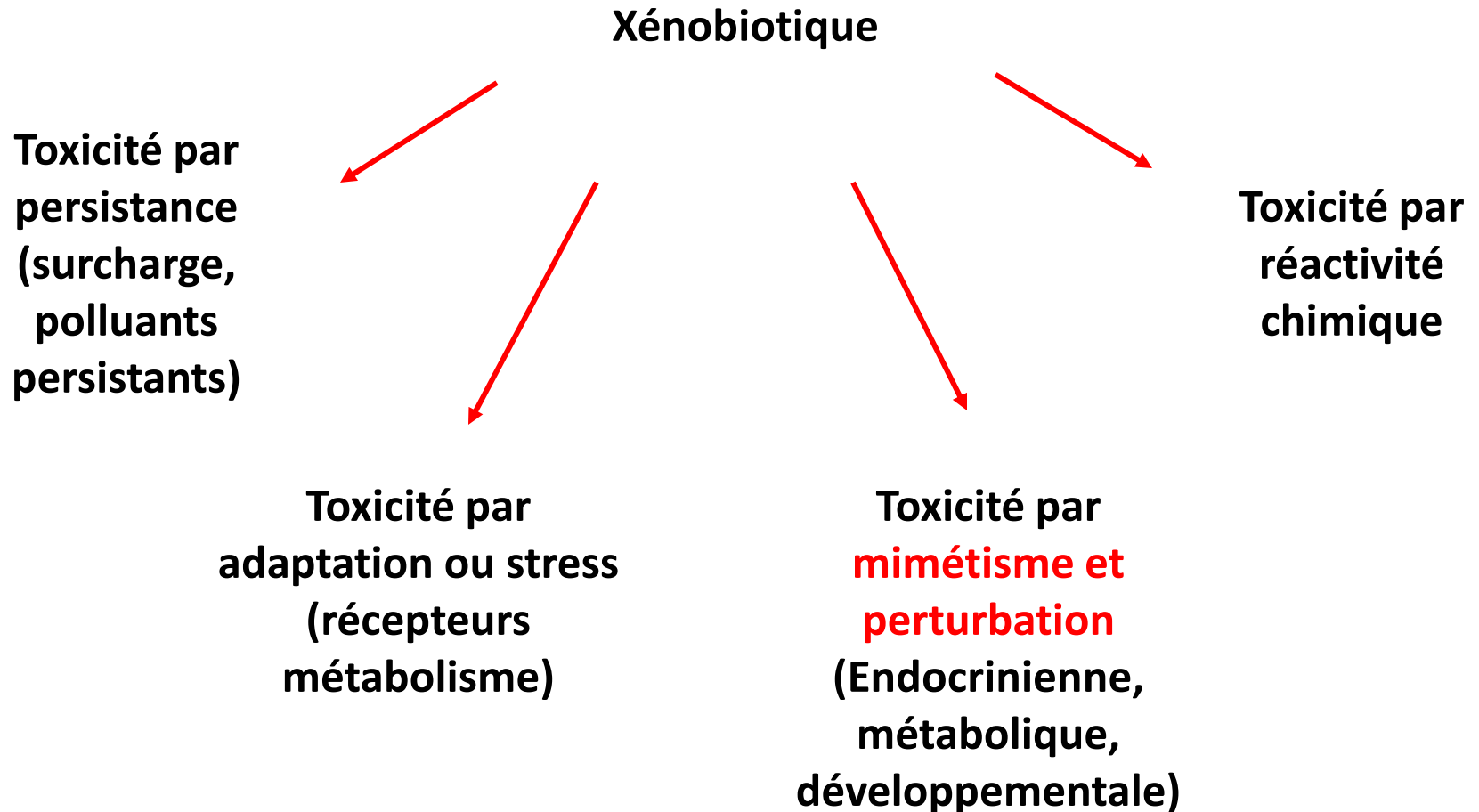
Les différents facteurs environnementaux

- **Environnement chimique: contaminants, air intérieur et extérieur**
- **Environnement physique: radioactivité, ondes électromagnétiques, particules**
- **Déséquilibres alimentaires et énergétiques**
- **Environnement biologiques, toxines, virus, etc.**
- **Stress psychologique, socio-économique**
- **Interactions entre différents facteurs de stress**

Pathologies chroniques liées à l'environnement

- ✓ Allergies
- ✓ Cancers
- ✓ Altération de la fertilité
- ✓ Maladies Neurologiques
- ✓ Obésité et Maladies métaboliques
- ✓ maladies autoimmunes
- ✓ Maladies du développement

Les grandes voies de toxicité



Perturbateurs endocriniens écotoxicologie et toxicologie

Carson 1962: « Silent Spring »

Colborn 1991, Wingspread conference

« A large number of man-made chemicals as well as a few natural ones have the potential to disrupt the endocrine system of animals, including humans »

IPCS 2002, OMS 2012

“An *endocrine disruptor* is an exogenous substance or mixture that **alters function(s) of the endocrine system and consequently causes adverse health effects** in an intact organism, or its progeny, or (sub) populations”;

and

“A *potential endocrine disruptor* is an exogenous substance or mixture that possesses properties that might be expressed to lead to endocrine disruption in an intact organism, or its progeny, or (sub) populations”

Perturbateurs endocriniens écotoxicologie

premières observations écologiques lacs et étangs contaminés

micropénis chez les alligators



hermaphroditisme chez les amphibiens



Le domaine des PE illustre parfaitement

l'interdépendance des études environnementales et humaines

Perturbation endocrinienne quelques cibles

- ✓ **Hormones et récepteurs des stéroïdes, surtout œstrogènes et androgènes**
- ✓ **Hormones thyroïdiennes: disponibilité**
- ✓ **Récepteurs et transporteurs des neurotransmetteurs**
- ✓ **Signaux à l'interface endocrinologie-métabolisme (PPAR, insuline)**
- ✓ **Signaux impliqués dans le développement (TR, ER,...)**

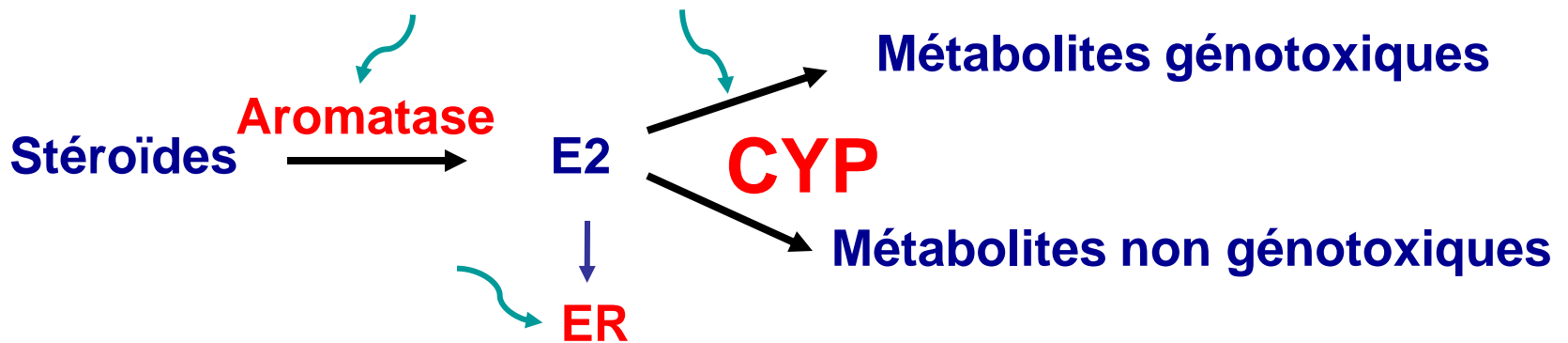
Il serait sans doute plus exact de parler de perturbation physiologique plus large (métabolisme, développement, neurologie,...)

La perturbation endocrinienne est un modèle

Les multiples mécanismes de la perturbation endocrinienne

Voie des œstrogènes

- ✓ Activation/inhibition des récepteurs des stéroïdes: effet de type agoniste partiel
- ✓ Activation indirecte par l'intermédiaire des récepteurs des xénobiotiques: ex. interaction AhR-ER
- ✓ Altération de la synthèse et du métabolisme: ex. aromatase et cytochromes P450
- ✓ Altération du transport: déplacement de l'hormone



Endocrine Disrupting Chemicals (EDCs)

HERBICIDES

2,4,-D
2,4,5,-T
Alachlor
Amitro
Atrazine
Linuron
Metribuzin
Nitrofen
Trifluralin

FUNGICIDES

Benomyl
Ethylene thiourea
Fenarimol
Hexachlorobenzene
Mancozeb
Maneb
Metiram - complex
Tributyltin
Vinclozolin
Zineb

METALS

INSECTICIDES

Aldicarb
beta-HCH
Carbaryl
Chlordane
Chlordecone
DBCP
Dicofol
Dieldrin
DDT and metabolites
Endosulfan
Heptachlor / H-epoxide
Lindane (gamma-HCH)
Malathion
Methomyl
Methoxychlor
Oxychlordane
Parathion
Synthetic pyrethroids
Transnonachlor
Toxaphene

INDUSTRIAL CHEMICALS

Bisphenol - A
Polycarbonates
Butylhydroxyanisole
Cadmium
Chloro- & Bromo-diphenyl
Dioxins
Furans
Lead
Manganese
Methyl mercury
Nonylphenol
Octylphenol
PBDEs
PCBs
Pentachlorophenol
Penta- to Nonylphenols
Perchlorate
PFOA
p-tert-Pentylphenol
Phthalates
Styrene

Testosterone synthesis inhibitor
Thyroid hormone disruptor

Estrogen receptor agonist
Androgen receptor antagonist

Les PE et les nouveaux défis de la Toxicologie

La qualité de l'exploration de **l'exposition**

Le **temps**: répétition, persistance interne, effets différés

La **dose**: relations dose-effet

La pertinence des **modèles** expérimentaux: le respect des 3R

La **vulnérabilité** de certains stades de développement

Les **biais**: facteurs confondants

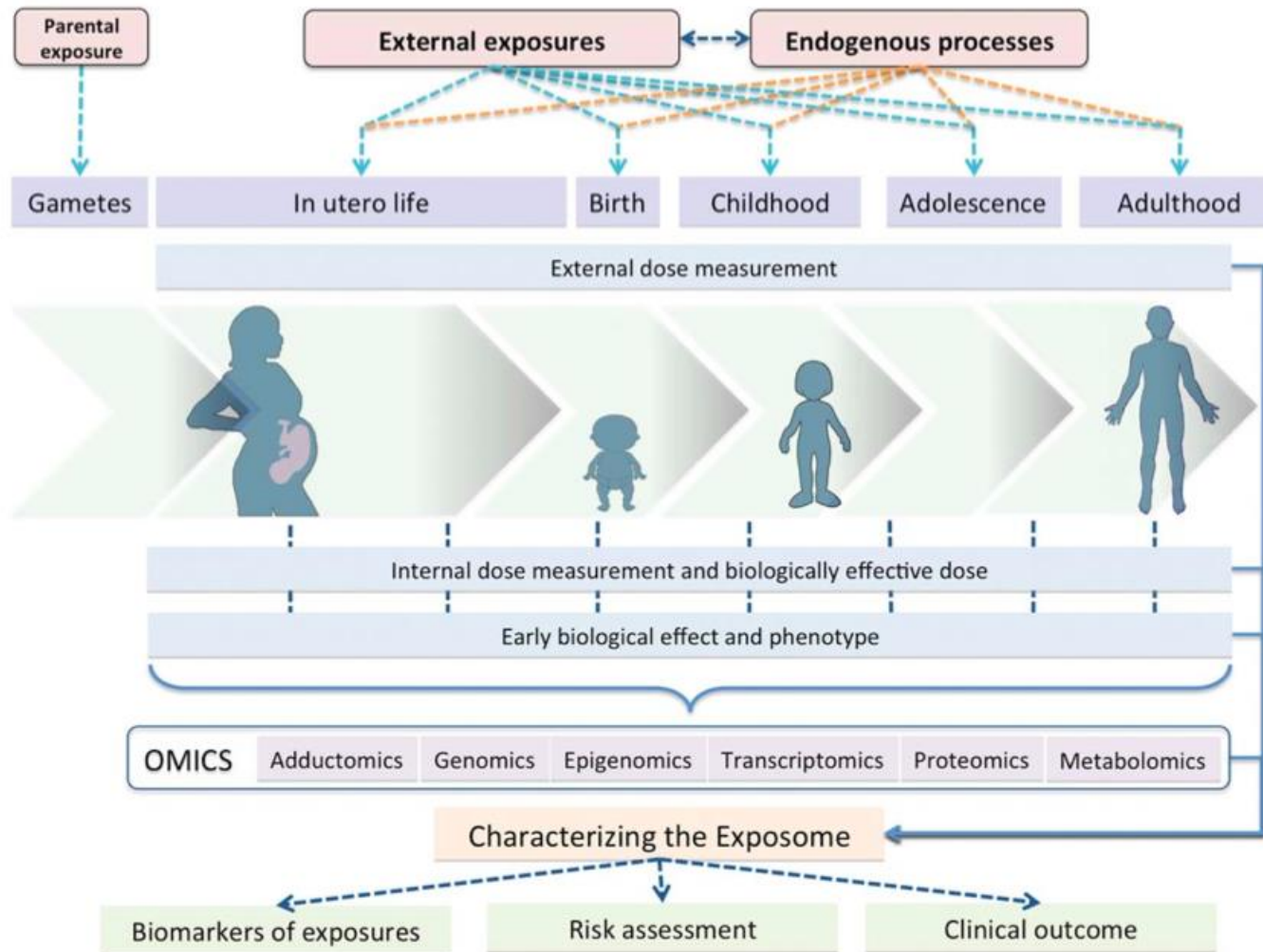
Les **mélanges**!! Additivité, synergie, antagonisme

Défi 1

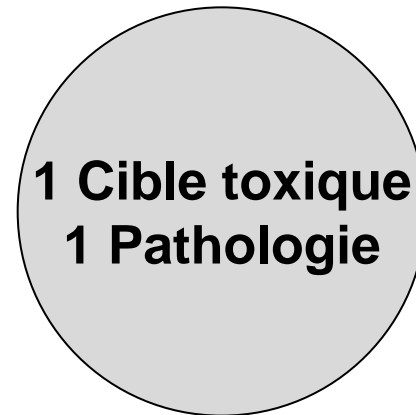
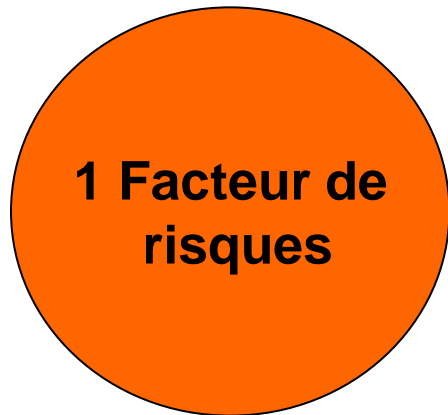
Expositions et pathologies à l'ère de l'exposome

Exposome

Les multi-expositions vie entière et leurs marqueurs internes



Avant

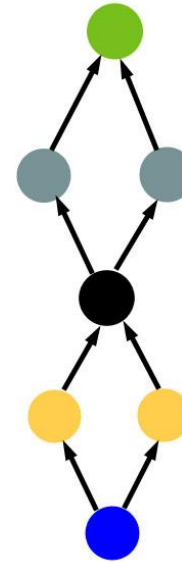
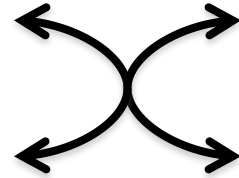
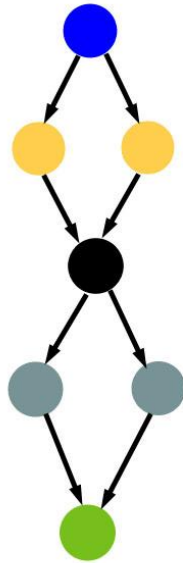


Amiante

mésothéliome

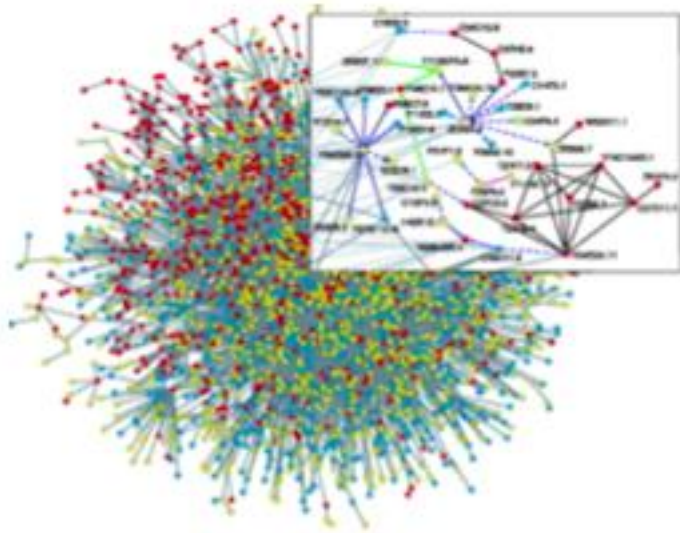
Depuis quelques temps

Alimentation
Génétique
Activité
Stress
Statut socio-économique
Contaminants

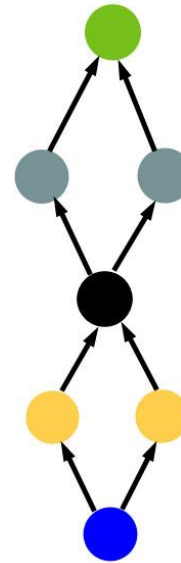
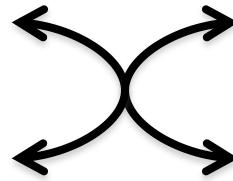


Cancer
Obésité
Diabète
Maladies
Neurologiques
immunotox

Bientôt

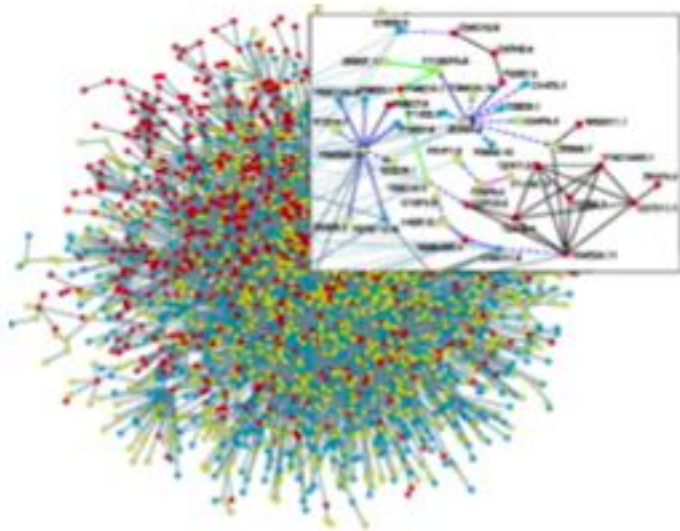


exposome

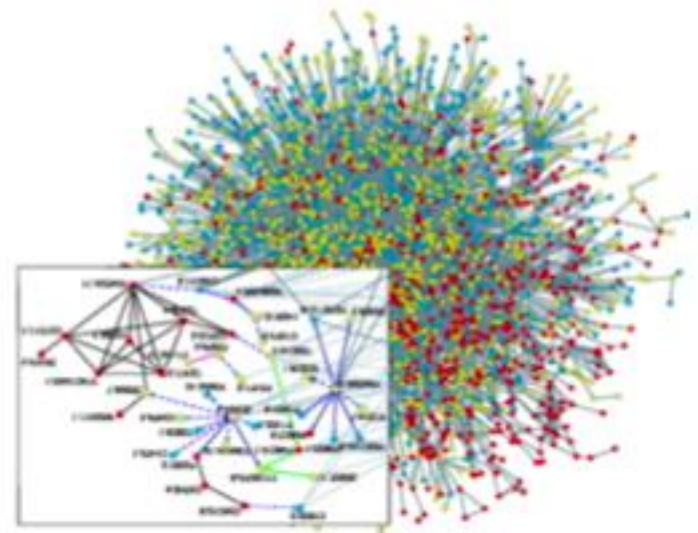
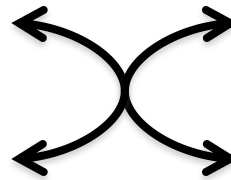


**Cancer
Obésité
Diabète
Maladies
Neurologiques
immunotox**

Dans pas très longtemps



exposome



Pathologies classifiées

Période, etc.

Cancers

Obésités

Diabète

Comment explorer l'exposome et ses conséquences?

**Des enquêtes (ex alimentaires, domicile, statut,
des matrices emploi-expositions, ...)**

Comment explorer l'exposome chimique et ses conséquences? Une médecine environnementale

Des enquêtes de plus en plus « approfondies »



Comment explorer l'exposome et ses conséquences?

Des enquêtes (ex alimentaires, domicile, statut, des matrices emploi-expositions, ...)

Des systèmes d'information géographique

Des biomarqueurs :

- Contaminant
- Métabolite
- Adduits (Hb, Alb, ADN)
- Omiques...
- Marqueurs physiologiques (AGD)

**Les mécanismes fournissent les bons biomarqueurs
Il y a encore beaucoup d'incertitude sur l'exploration
des expositions surtout les plus anciennes**

Défi 2: les mélanges

L'univers chimique

>100 000
molécules chimiques

Nous n'avons de connaissances que sur quelques milliers de molécules

Un grain de poussière, une particule atmosphérique, la fumée de tabac contiennent des milliers de molécules

Une infinité de mélanges!!

Focalisation sur les voies de toxicité

Passer de dizaines de milliers de composés chimiques à quelques dizaines de voies de toxicité (Tox 21)

xenobiotics

P53 MAPK

apoptosis
proliferation

ER AR TR

endocrine
disruption

NRF2 NFkB

oxidative
stress

AhR

adaptation
metabolism

PXR/CAR

PPAR

Perturbateurs endocriniens

Les effets cocktail

Un perturbateur, ça va; c'est quand il y en a plusieurs...

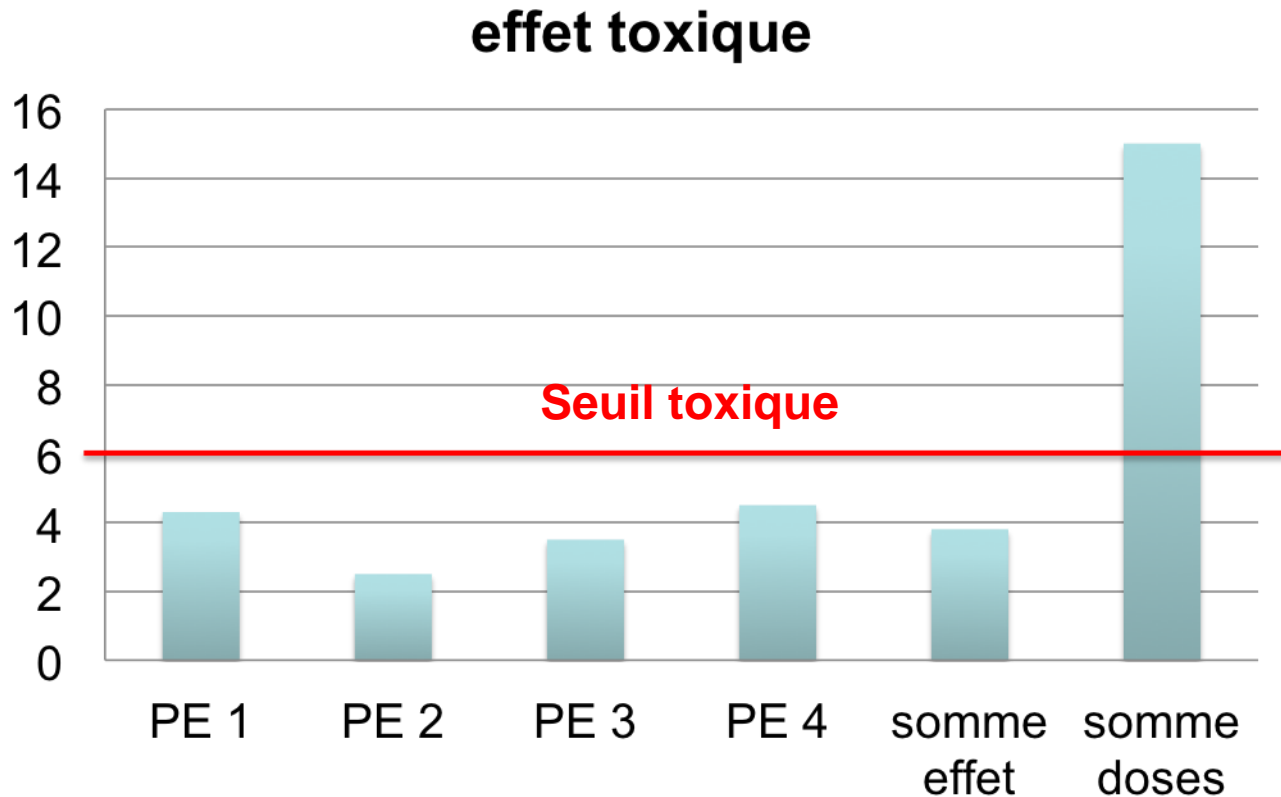
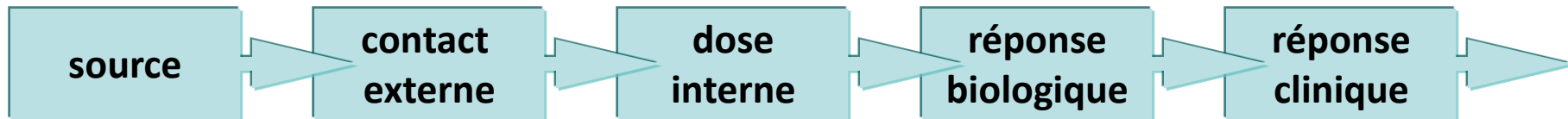


Tableau théorique

Défi 3: modéliser le temps

Le temps: études populationnelles

A l'échelle des populations:

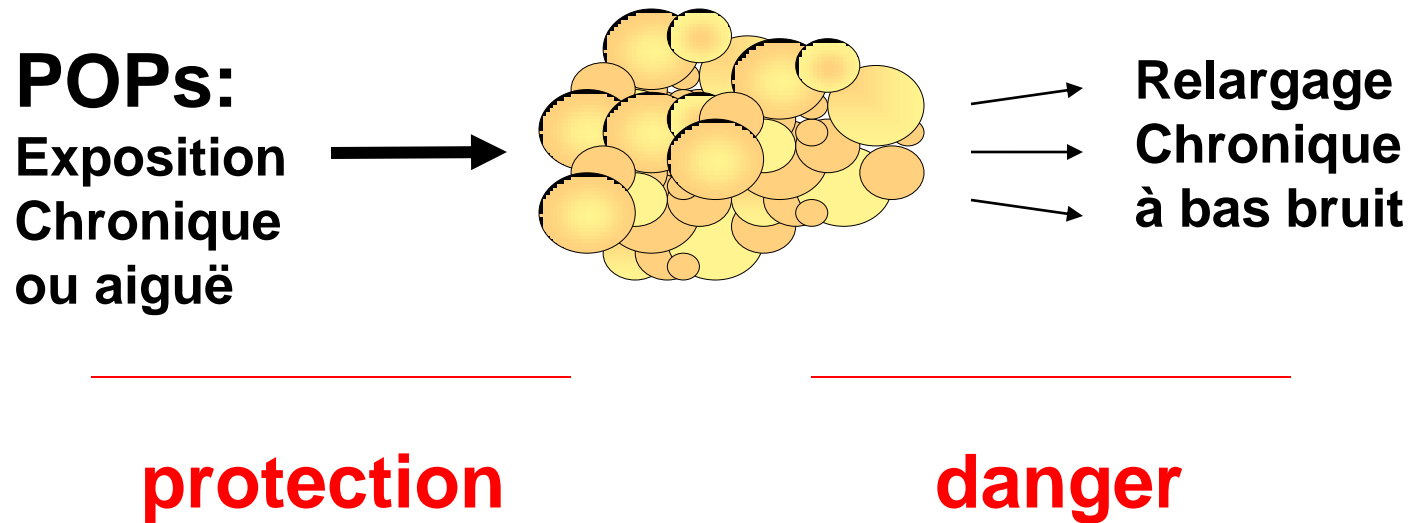


- distance entre l' exposition et les manifestations cliniques
- pertinence des marqueurs biologiques précoces discutée
- effets relativement faibles nécessitant des effectifs importants

Le temps: différents modes d'exposition

- Toxicité par **réitération**: tabac, air, contaminants usuels
- Toxicité **différée par programmation**:
période de vulnérabilité
- Toxicité par **persistance**: POPs, stockage dans le tissu adipeux et exposition chronique interne

Exemple: rôle du tissu adipeux



Protecteur en aiguë, dangereux en chronique

Adaptatif vs toxique?

Certaines réponses aux xénobiotiques sont adaptatives et permettent de limiter les toxicités aigus

**Ces mêmes réponses peuvent entraîner une toxicité à long terme
Ex: métabolisme par les CYP, stockage dans le tissu adipeux, etc.**

Le caractère adaptatif d'une réponse n'est pas incompatible avec une toxicité à long terme

Défi 5: La dose

Dogmes et Principes

- **la dose fait le toxique**

“All things are poison and nothing is without poison, only the dose permits something not to be poisonous.”

Phillip von Hohenheim “*Paracelsus*”

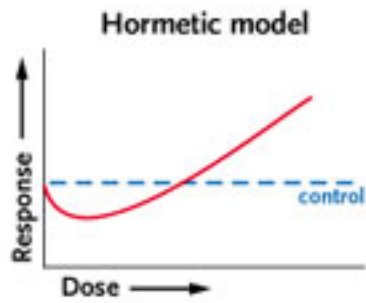
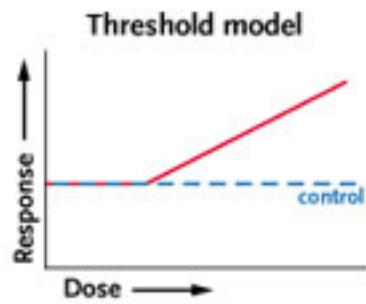
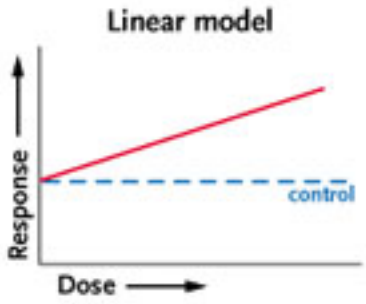
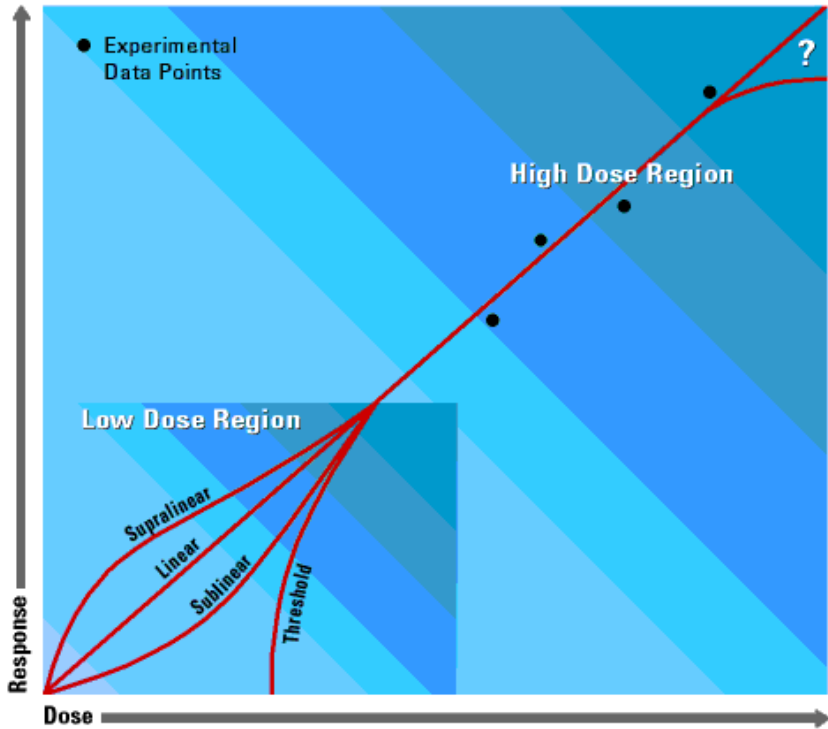
- **La relation dose-effet n'est pas nécessairement monotone (courbe en U inversé)**

- **La dose dépend du contexte (vulnérabilité)**

- **le risque dépend du danger et de l'exposition**

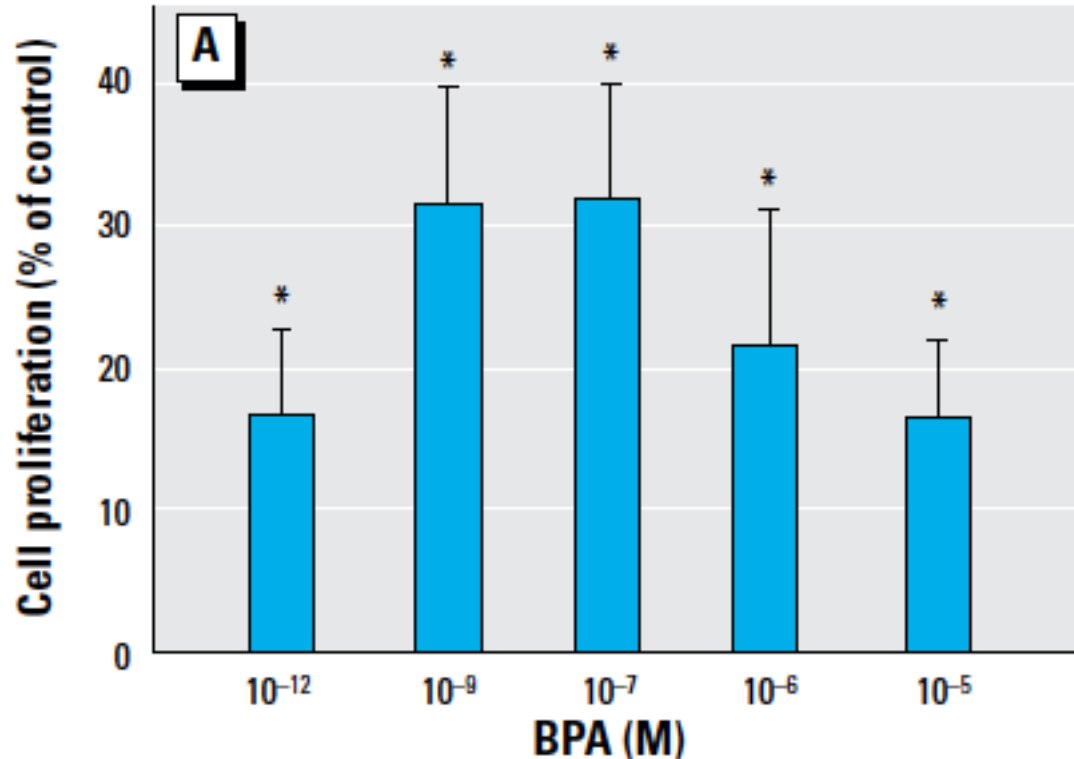
doses et seuils

Transposition dose expérimentale-dose environnementale



Hypothèse **linéaire**:
majoration de
l'effet à faible dose
Hormesis: effet
protecteur à faible
dose

BisPhenol A: exemple de courbe en U inversé

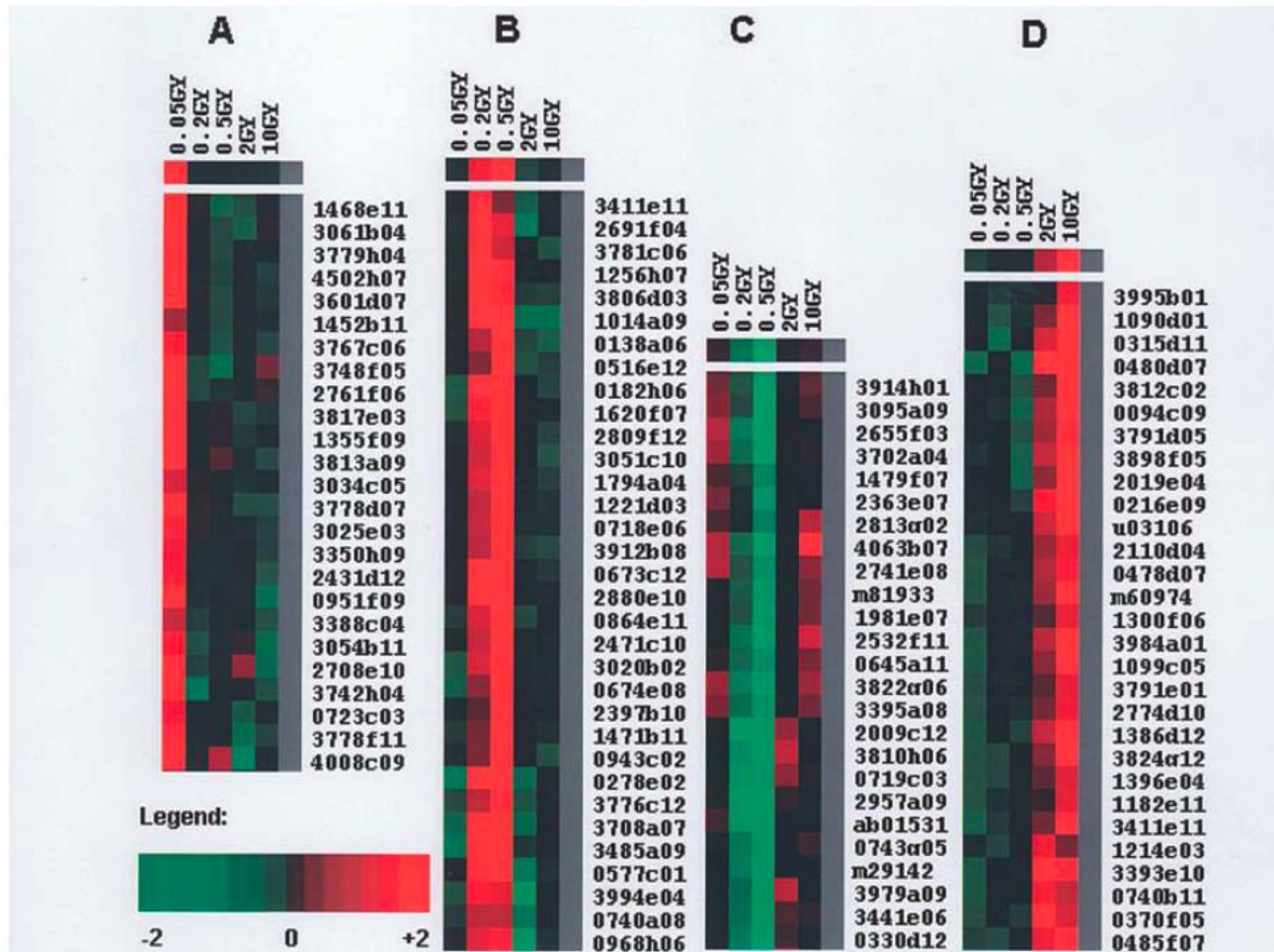


Effet du BPA sur la prolifération des cellules JKT1
(lignée de séminome humain)

Deux mécanismes?

Bouskine et al, EHP, 2009

Des effets qualitativement différents selon les doses



Expression des gènes et irradiation:
Certains gènes ne sont induits qu'à faibles doses, d'autres uniquement à fortes doses

Des effets différents selon les doses sont possibles et suggérés par les travaux de génomique à grande échelle (récepteurs différents)

Défi 5: Modèles et tests

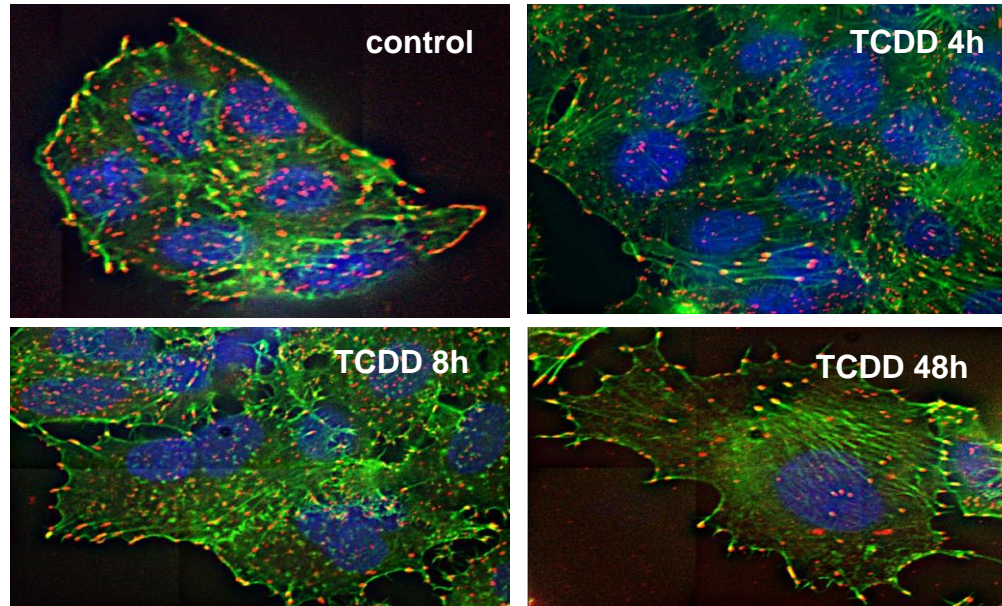
Les modèles et les tests

**Montrer les caractères endocrinien: du moléculaire à l'intégré.
Comment modéliser une perturbation nécessitant plusieurs organes?**

Montrer un caractère pathologique (adverse effect)

**Modélisation moléculaire,
tests cellulaires,
tests sur organismes entiers,
Exploitation de données humaines**

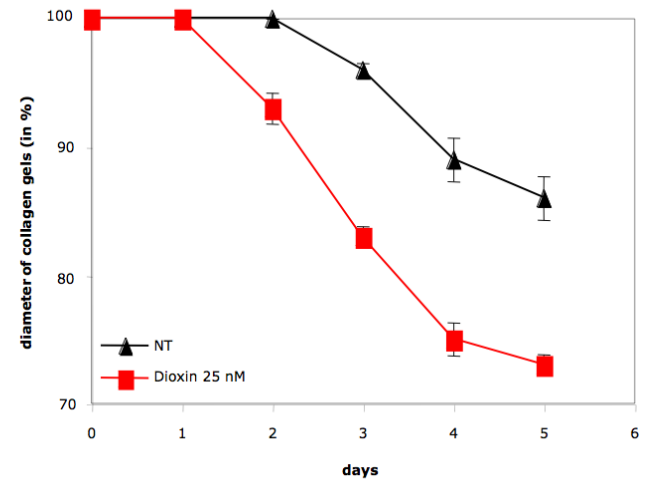
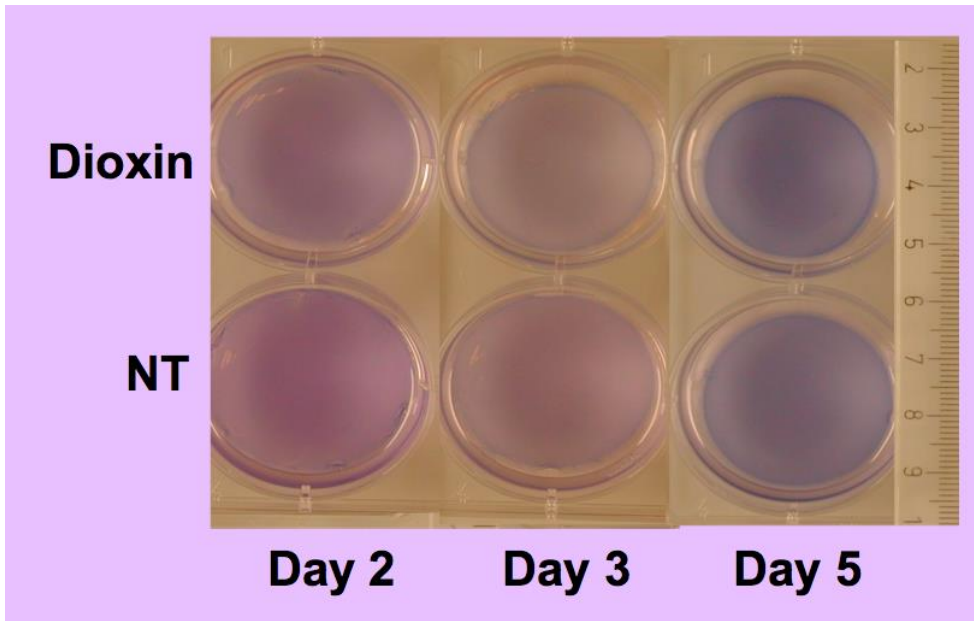
Exemple 1: effet de la dioxine sur la transition épithélio-mésenchymateuse



La TEM est associée à une modification de l'adhérence cellulaire et une augmentation de la migration

Elle est impliquée dans la formation de métastases, la fibrose et l'inflammation

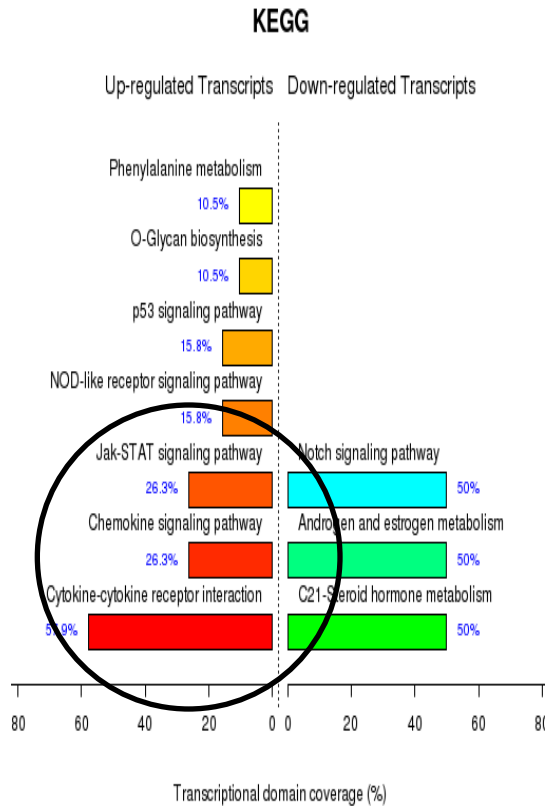
Exemple 1: TEMTOX, un test simple de transition épithélio-mésenchymateuse



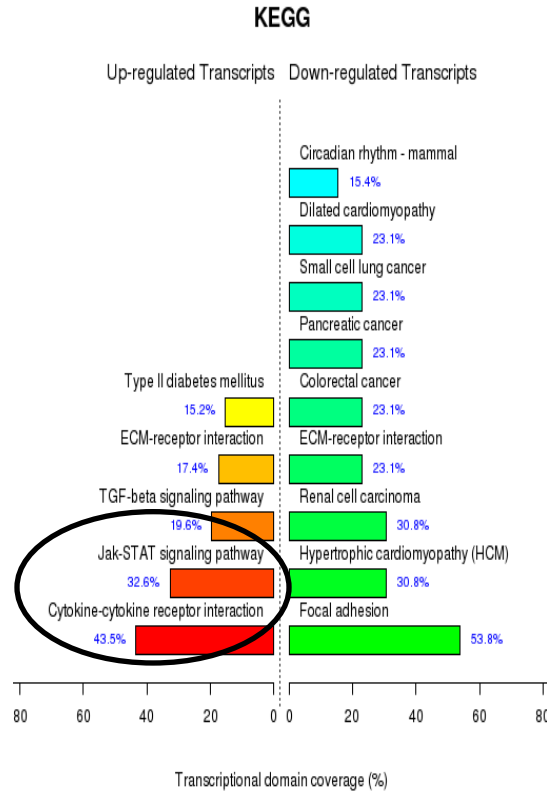
Contraction d'un gel de collagène sous l'effet de l'acquisition par les cellule HepG2 ou MCF7 de caractères mésenchymateux

(WO 2011/151595A1)

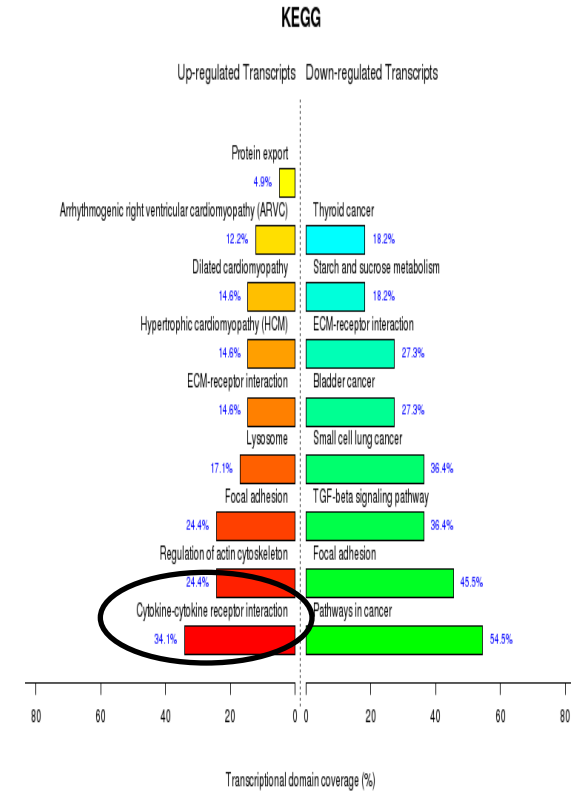
Exemple 2: Effets des POPs sur le transcriptome des cellules adipocytaires humaines hMADS



TCDD (25 nM) treated preadipocytes



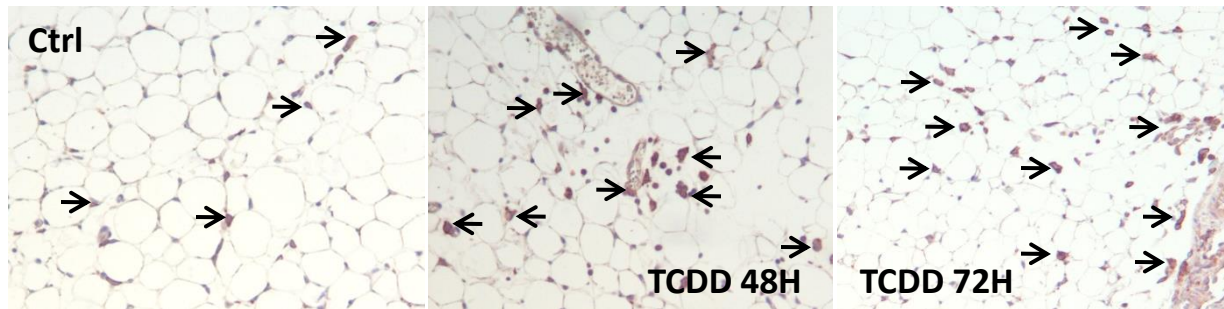
PCB126 (1 μM) treated preadipocytes



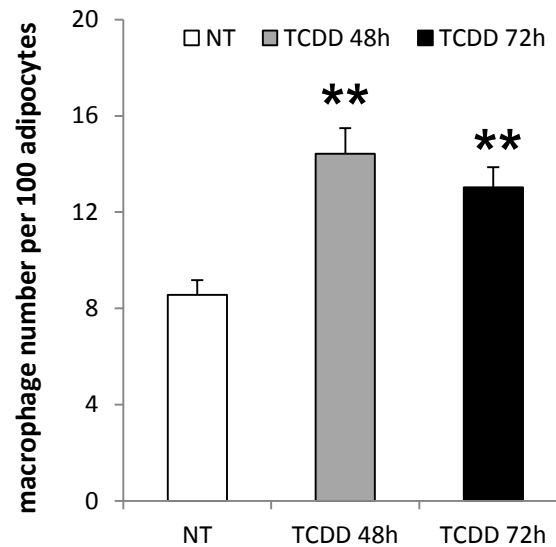
PCB153 (10 μM) treated preadipocytes

Les gènes de l'inflammation sont la première cible des POPs dans les cellules adipocytaires

Exemple 2: confirmation de l'effet pro-inflammatoire de la dioxine sur le tissu adipeux in vivo



F4/80 antibody



Les effets transgénérationnels

Les effets transgénérationnels

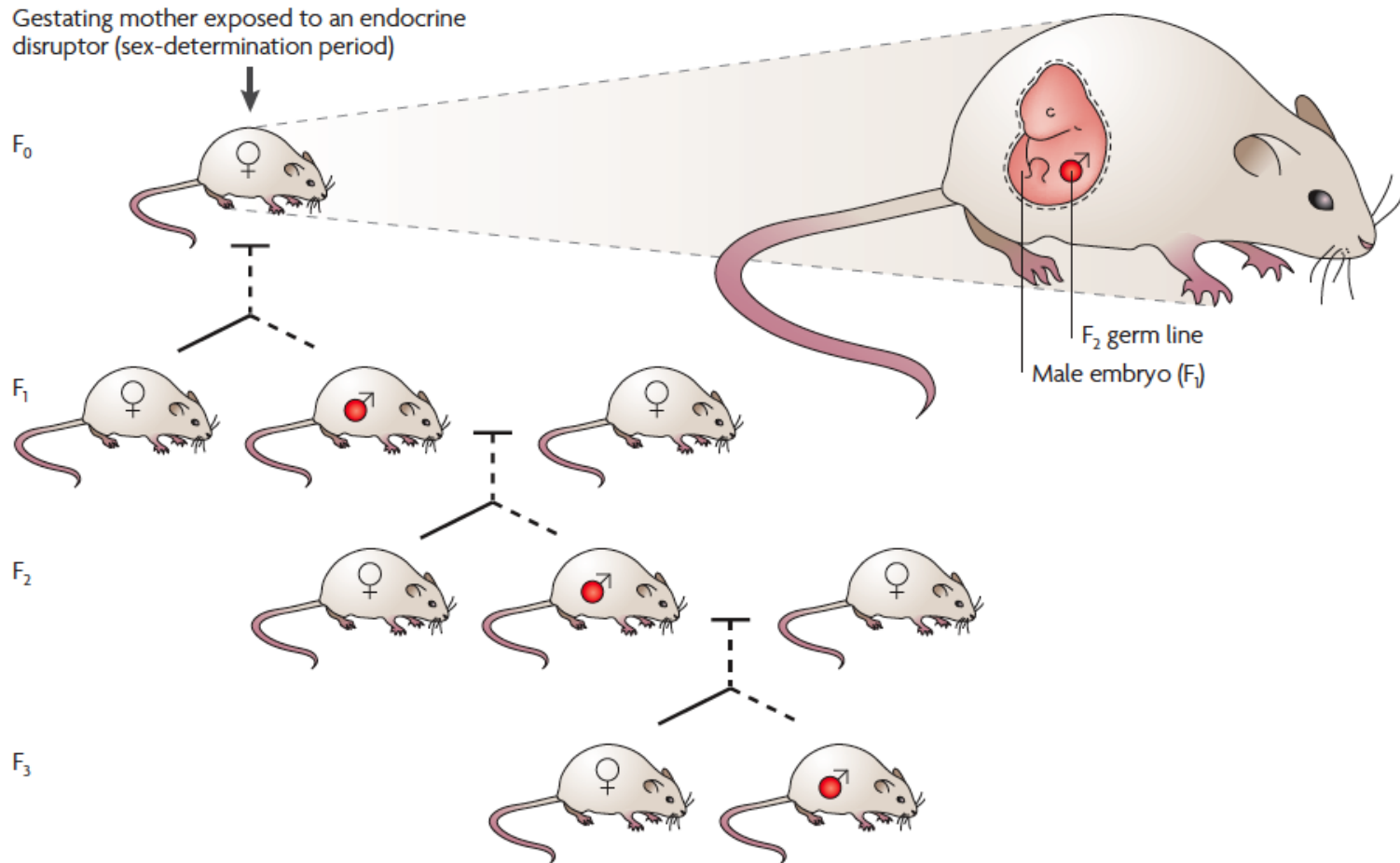
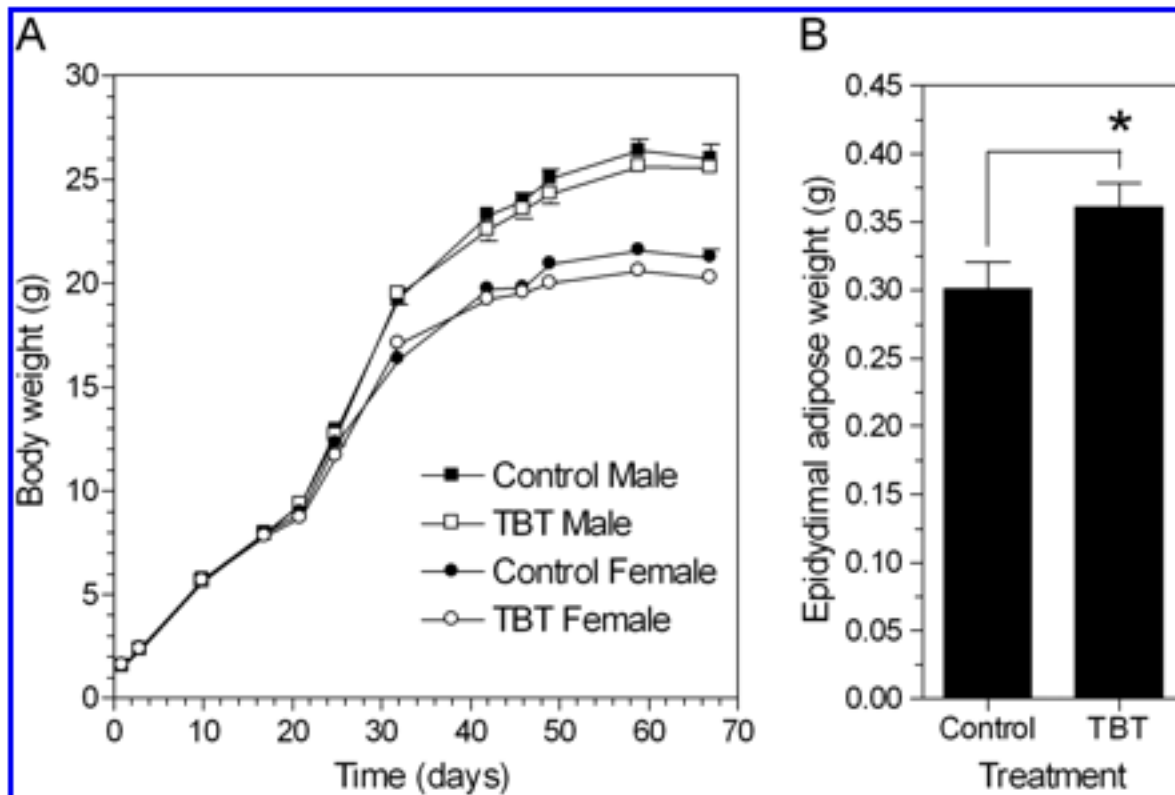


Figure 5 | Germline transmission of epigenetically regulated transgenerational phenotypes. In a gestating mother, there is multiple-generation exposure of the F₀ female, the F₁ embryo and the F₂ generation germ line to environmental factors. The transgenerational transmission of disease phenotypes through the male germ line (labelled red) is indicated. Both male and female offspring develop disease, but the transgenerational phenotype is transmitted only paternally after exposure to vinclozolin⁹⁶.

Polluants et contaminants obésogènes

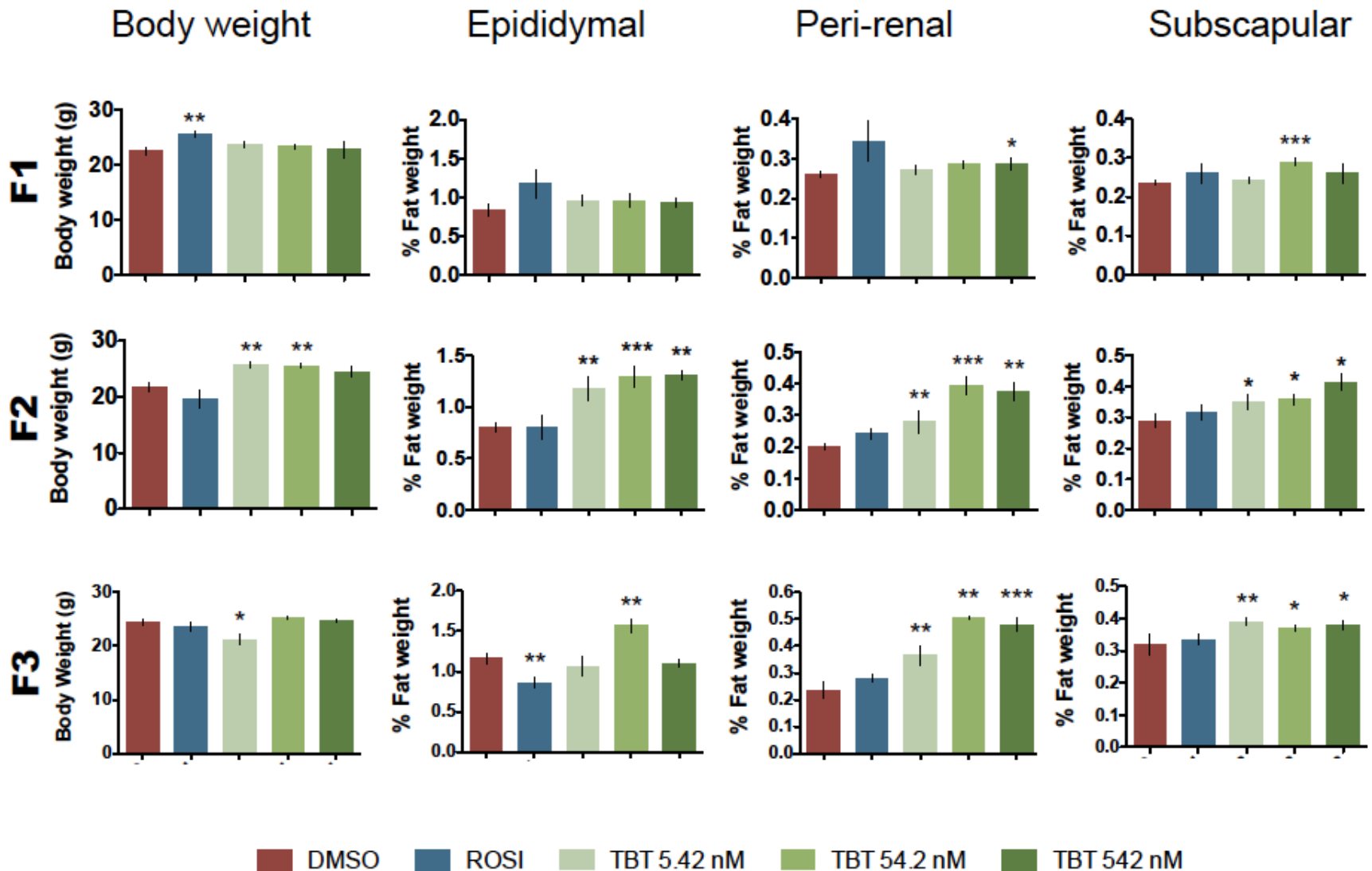
le cas du TBT

Exposition de rats *in utero*: suivi de la courbe de croissance et du poids du TA épidydimaire



TBT exposure has transgenerational effects

Heavier fat depots



Les origines de la vulnérabilité

Les origines multiples de la vulnérabilité

Origine endogène

facteurs génétiques ou **épigénétiques**

âge: **période fœtale**, enfance, prépuberté, vieillissement

facteurs physiologiques: hormones, grossesse

pathologies: diabète, hépatites, inflammation...

Origine exogène

alimentation

comportement et habitudes

milieu socio-économique

environnement physique et chimique



Early Prenatal

Mid-Late Prenatal

Postnatal

Central nervous system (3wks - 20 years)

Ear (4-20 wks)

Kidneys (4-40 wks)

Heart (3-8)

Limbs
(4-8wks)

Immune system (8-40 wks; competence & memory birth-10yrs)

Skeleton (1-12 wks)

Lungs (3-40 wks; alveoli birth-10yrs)

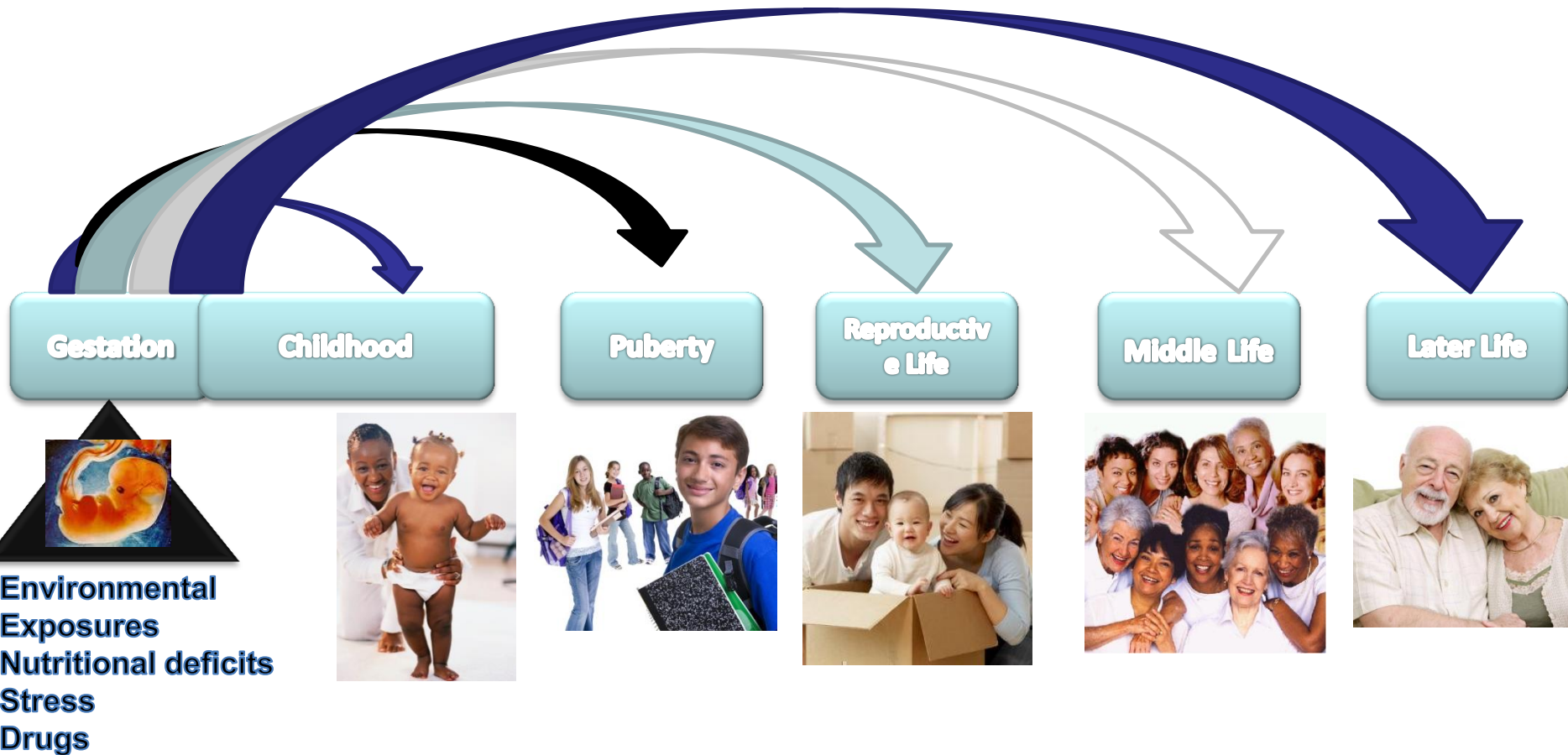
Reproductive system (7-40wks; maturation in puberty)

Week 1-16

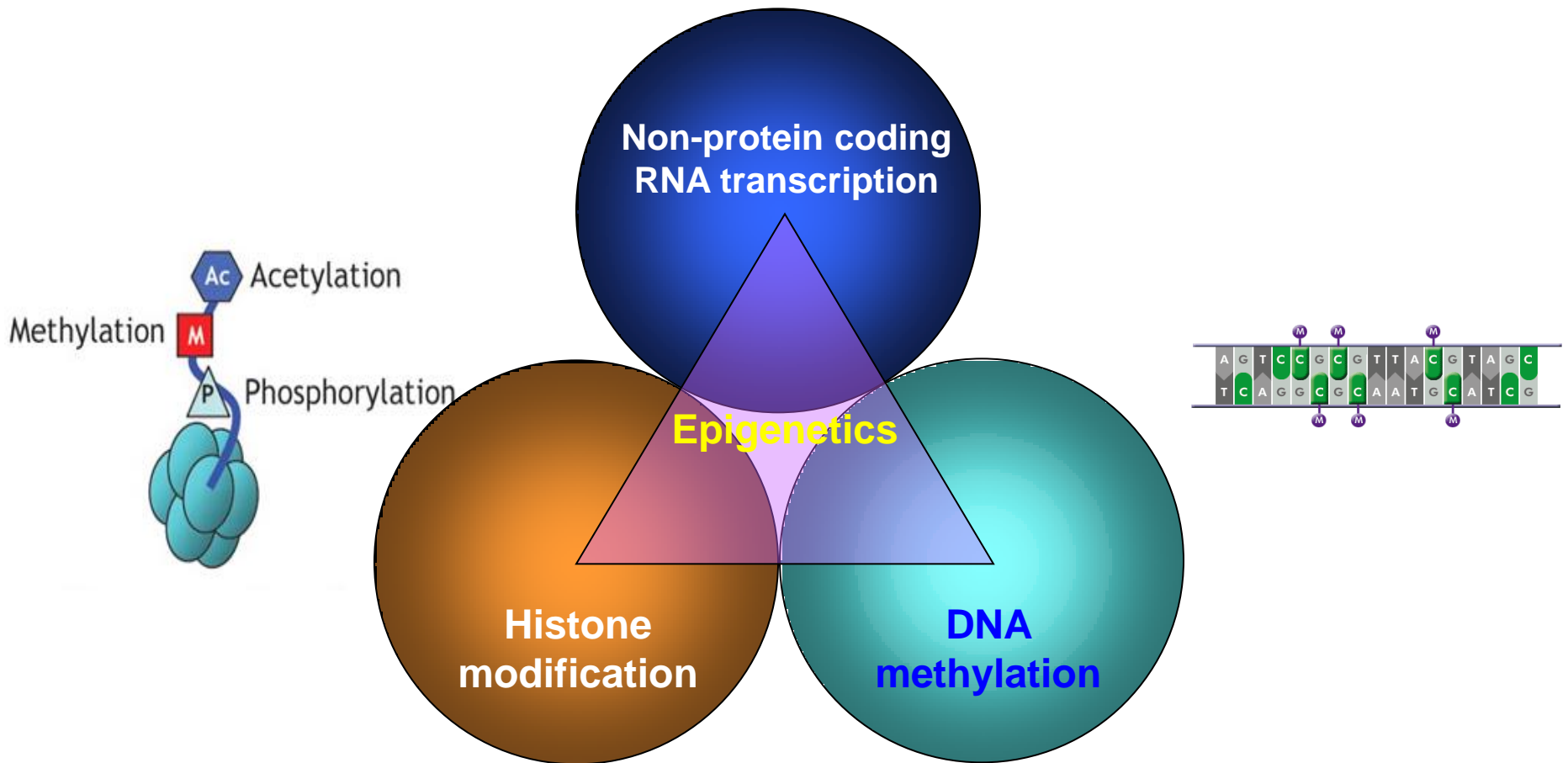
Week 17-40

Birth – 25 years

Developmental Origins of Disease: Developmental Exposures Lead to Disease Throughout Life



L'épigénétique: un mécanisme biologique, enfin!



Zachary, ESBRA 2007

Epigénome: modifications relativement stables de l'ADN et de la chromatine, potentiellement héritable, sans modification de séquence

Nombreux remaniement pendant la période fœtale et l'enfance

It's the tests, stupid!