

ADEBIOTECH – 8 juillet 2014

Les PERTURBATEURS ENDOCRINIENS

→ Intérêts de MODÈLES PLACENTAIRES HUMAINS Pour l'évaluation des risques

- **Pr Patrice RAT**

Laboratoire de Toxicologie cellulaire et sécurité sanitaire
Faculté de Pharmacie de Paris (Univ. Paris Descartes)

- Patrice.rat@parisdescartes.fr
- → **Master M2 Toxicologie THERV Professionnel** (Université Paris Descartes)
 - (THERV : T oxicologie H umaine, E valuation des R isques et V igilances)
- → **DU Evaluator de Sécurité pour produits chimiques et cosmétique**

Informations sur la sécurité du produit

→ Evaluation du Risque

Méthodologie

DANGER

Etape 1: Identification du danger de la substance

- **Données de caractérisation**
- **Données de sécurité**
 - chez l'animal (toxicologie)
 - chez l'homme (cliniques, vigilance, épidémiologiques)
 - Modèles QSAR, *in silico*

Etape 2: Evaluation de la dose-réponse

EXPOSITION

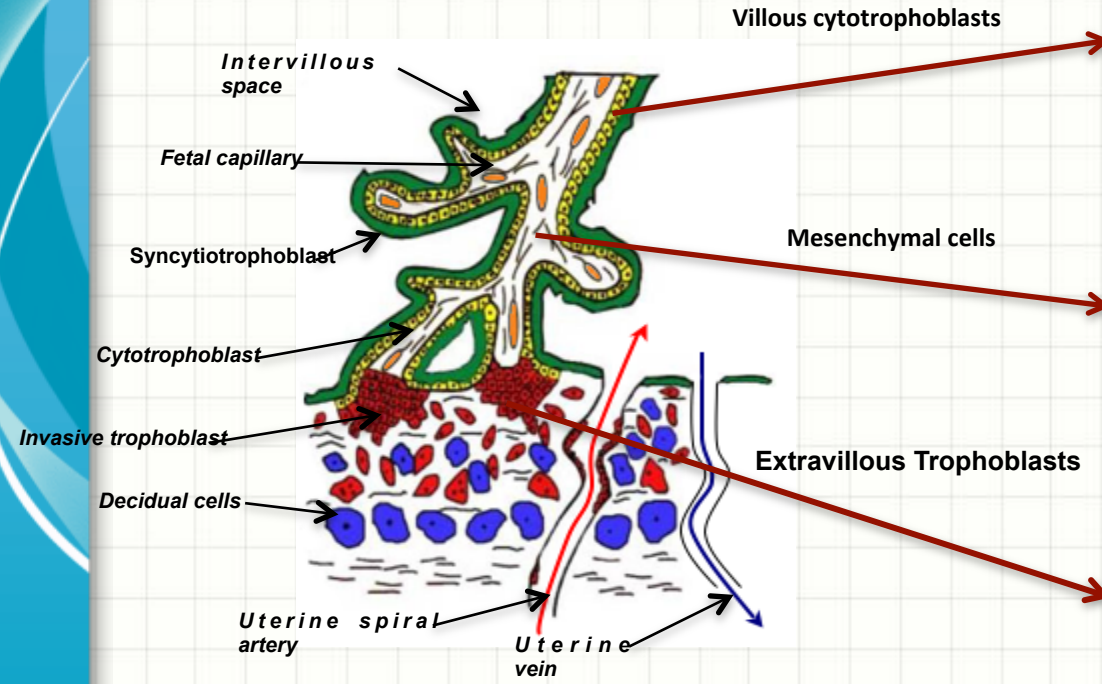
Etape 3: Evaluation de l'exposition de la substance



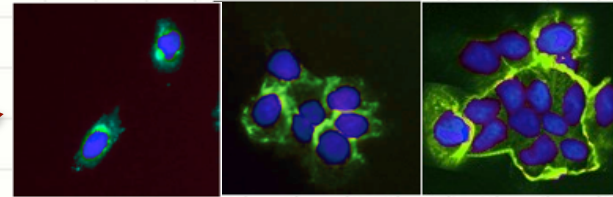
RISQUE = DANGER x EXPOSITION

In vitro and ex vivo models to study human placental development and functions

PLACENTA informations : Clinic / Ex VIVO / In vitro



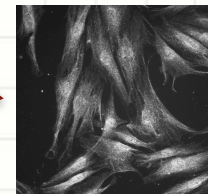
In vitro syncytiotrophoblast formation



- CK7
 - hCG
 - hPL
- Fusion index

*Frendo et al, 2001; Tarrade et al, 2001
Handschuh et al, 2007; Pidoux et al, 2010...*

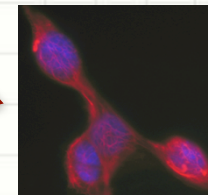
Mesenchymal cells



- Vimentin
- Activin A

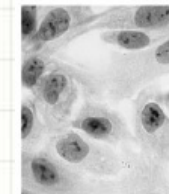
Gerbaud et al, 2011

Extravillous Trophoblasts

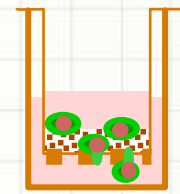


- CK7
- HLA G
- CD9
- c-erbB2
- α5

*Tarrade et al, 2001
Handschuh et al, 2007*



HIPEC (patent)
Pavan et al, 2003



Invasion assay

Chorionic villi from early & late first trimester
second and third trimester placentas

- ➔ ANR Placentox
- UMR CNRS 8638
- Fondation PREM UP Dr Evain-Brion
- Insem UMRS 1139 Dr T. Fournier



Perfused placental cotyledon

Monitoring
Antipyrine transfer

Gavard et al, 2006

Informations sur la sécurité du produit

→ Evaluation du Risque

POURQUOI ?

le Placenta n'est pas une Barrière
« toxicologiquement ». c'est un
organe cible.

➤ Un produit peut altérer le fœtus
sans passer le placenta mais en
stimulant une atrophie ou
dégénérescence placentaire.

DONC : intégrer des marqueurs des
dégénérescence placentaire dans
évaluation de risques



EXPOSITION

**ETUDE DU PASSAGE
TRANSPLACENTAIRE ??**
Pas de passage – pas de risque?
→ **UNE FAUSSE
BONNE IDEE !!**

RISQUE = DANGER x EXPOSITION

Informations sur la sécurité du produit

→ Evaluation du Risque

Méthodologie

DANGER

Identification du danger

- importance de modèles HUMAINS (spécificité régulation Enzymes/ Hormones)
- IMPORTANCE de doser des Hormones pour un PE
- Attention aux tests sur récepteurs qui stimulent plusieurs hormones différentes

DONC : intérêt des tests hormonaux sur placenta humain



RISQUE = DANGER x EXPOSITION

Une APPROCHE -A PARTIR DE LA CLINIQUE

➔ PERSONNES À RISQUE FACE AUX PE

- **Femmes enceintes (court terme)**
 - Avortement spontané
 - Accouchement prématuré
 - Souffrance foétale
 - Altération de la fonction placentaire
 - ... ➔ **Analyse placenta si fausse-couche**
- **Enfant à naître (moyen-long terme)**
 - Cancer à 15-20 ans
 - Stérilité
 - Pathologies chroniques
 - ...

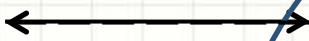
ÉVALUATION DU RISQUE

- Perturbations de la grossesse (retard de croissance intra-utérin, avortements spontanés, accouchement prématuré) associées à des toxiques et polluants, notamment aux PE

Observations cliniques :
perturbations de la grossesse

Maternité associée

Avortement spontané



Hormone placentaire A

Souffrance foetale



Hormone placentaire B

Altération placentaire



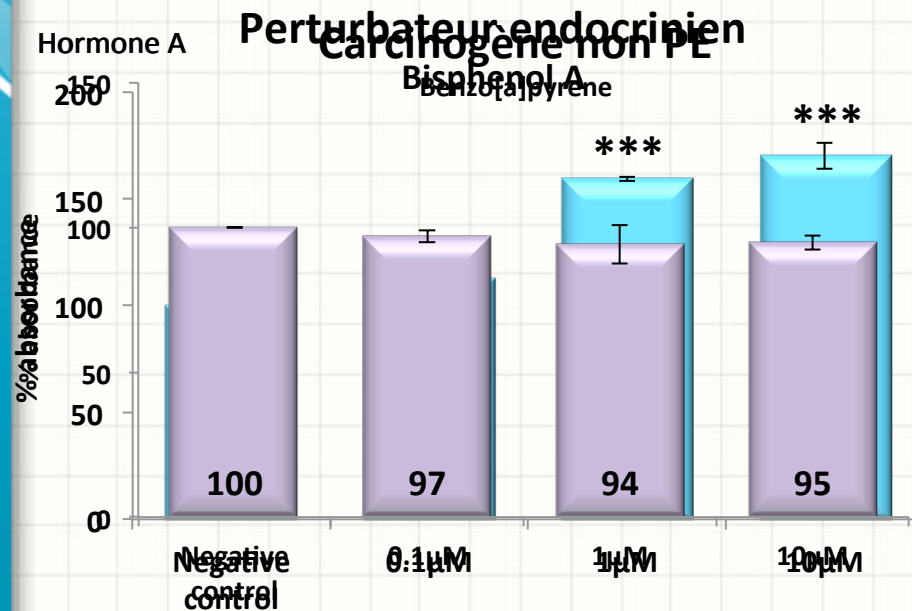
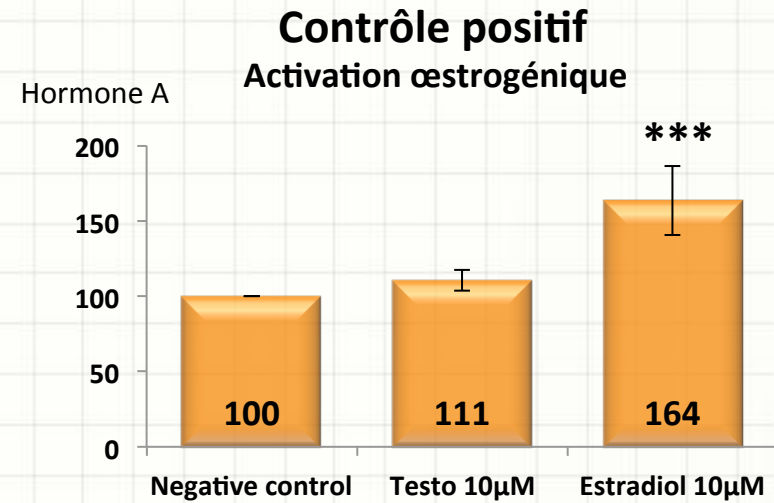
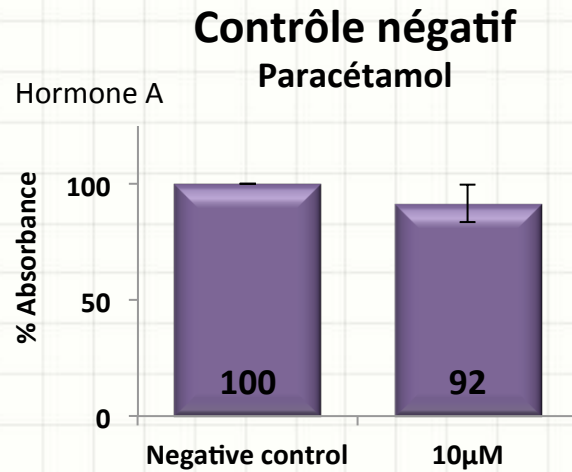
Récepteur de
dégénérescence
Placentaire

Mise au point d'un
modèle d'évaluation *in vitro* :

Placenta Humain

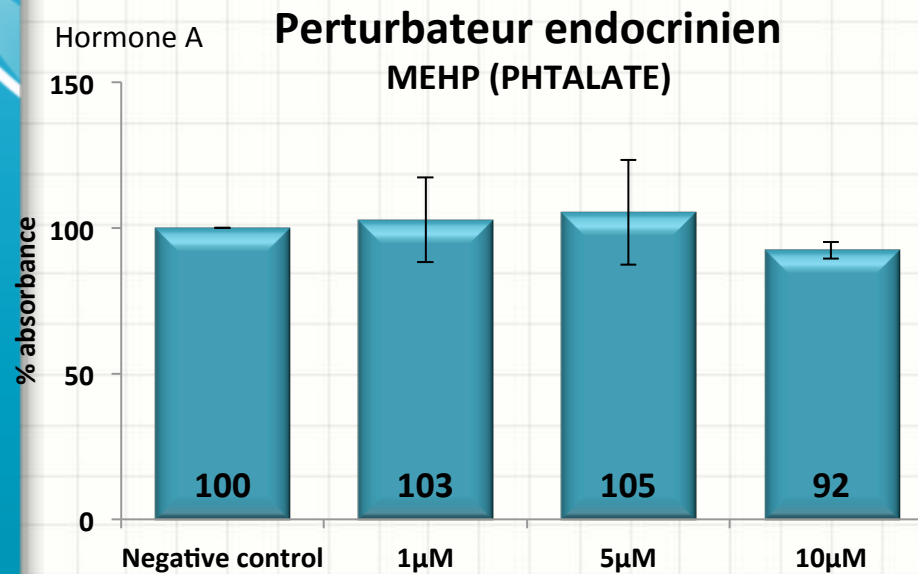
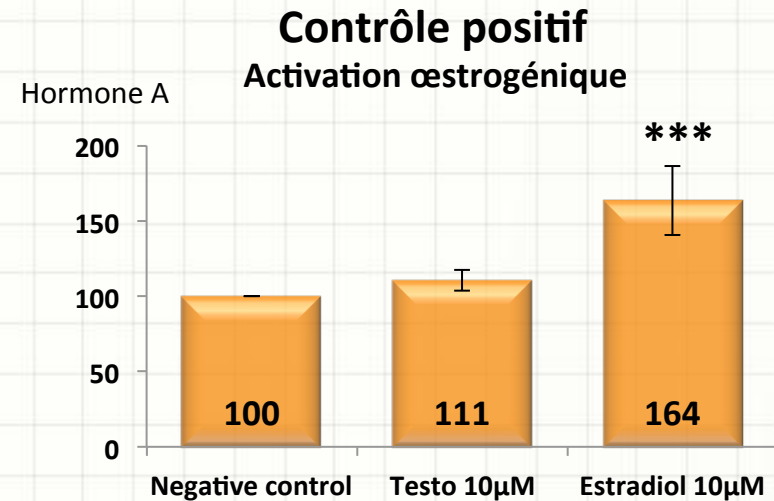
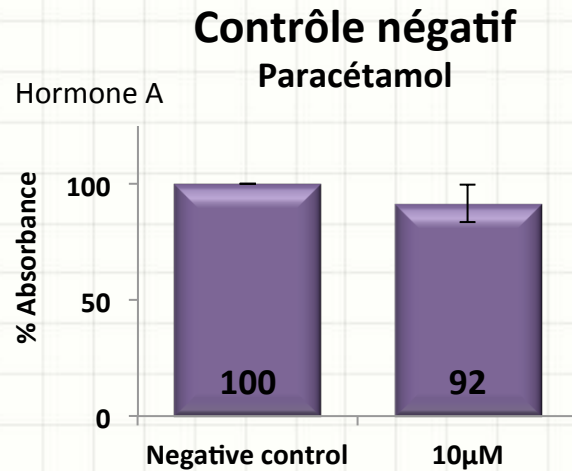
**Puis lignée placentaire
humaine**

RÉSULTATS D'HORMONOLOGIE : DOSAGE DE L'HORMONE A SÉCRÉTÉE



- Le Bisphénol A, le Benz(a)pyrene, ne modifient pas la sécrétion de l'hormone A

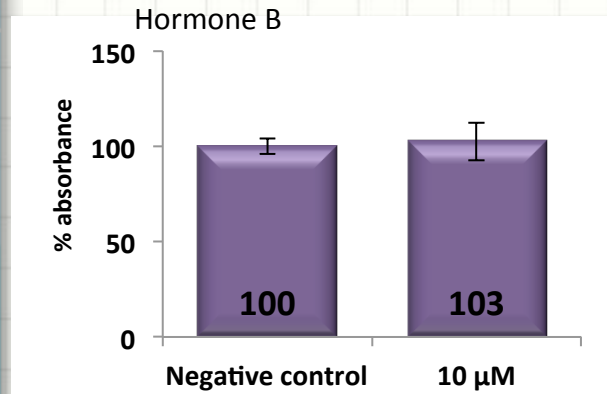
RÉSULTATS D'HORMONOLOGIE : DOSAGE DE L'HORMONE A SÉCRÉTÉE



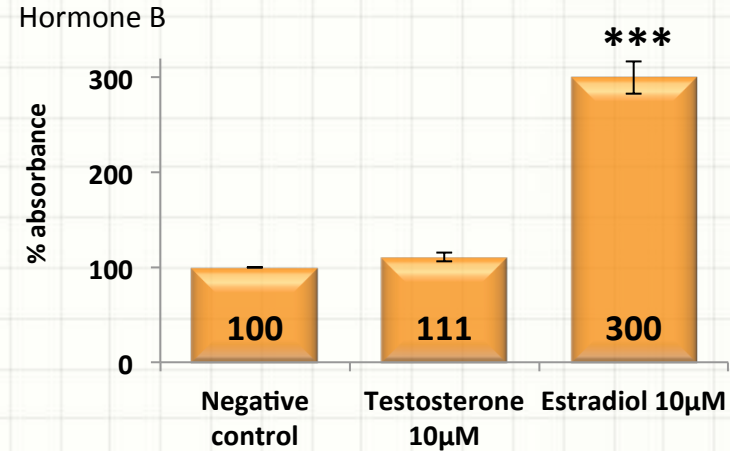
- Le MEHP, (Mono-2 Ethyl Hexyl Phtalate) un PE, ne modifie pas la sécrétion de l'hormone A

RÉSULTATS D'HORMONOLOGIE : DOSAGE DE L'HORMONE B SÉCRÉTÉE

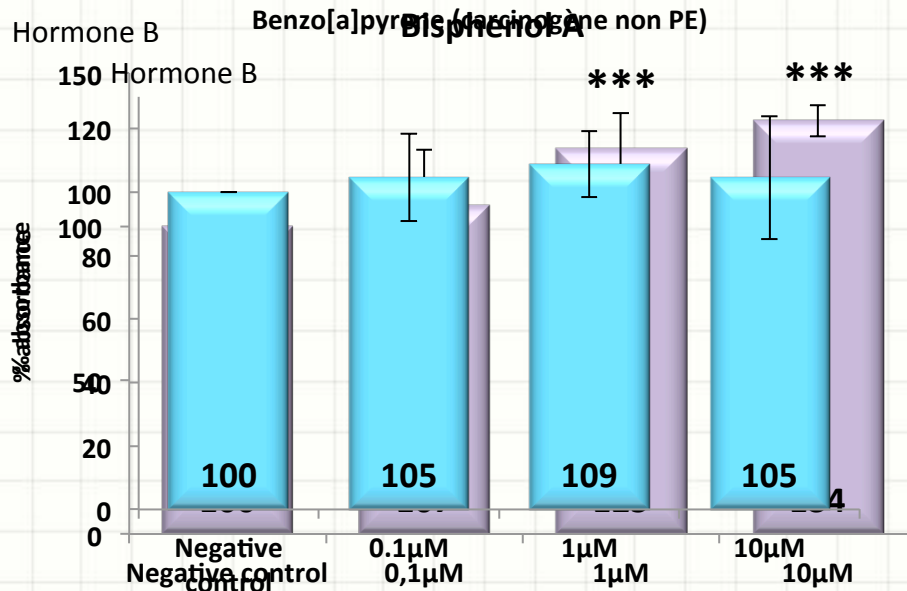
Contrôle négatif
Paracétamol



Contrôle positif
Activation œstrogénique



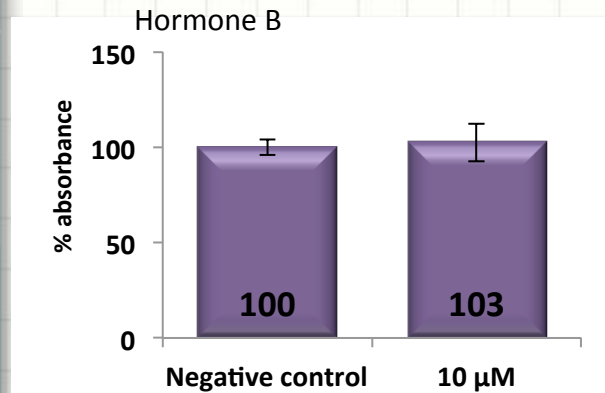
Contrôle négatif
Benzo[a]pyrene (non PE)



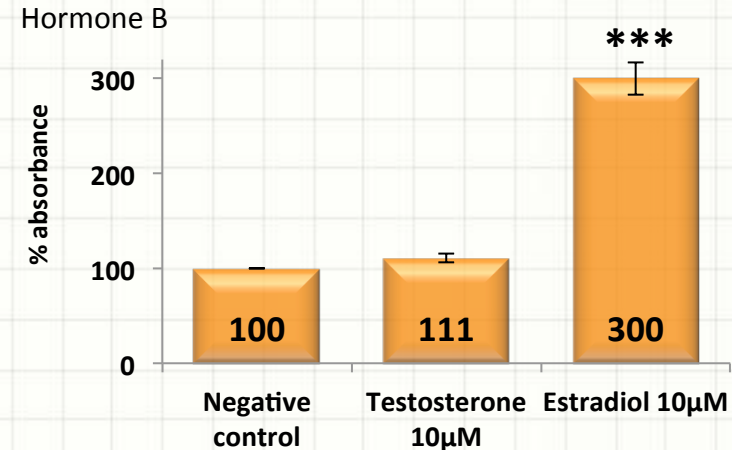
- Le Benzo[a]pyrene, PE augmente la sécrétion de l'hormone B
- modifie pas la sécrétion de l'hormone B
- Effet mimétique œstrogénique ?

RÉSULTATS D'HORMONOLOGIE : DOSAGE DE L'hPI SÉCRÉTÉE

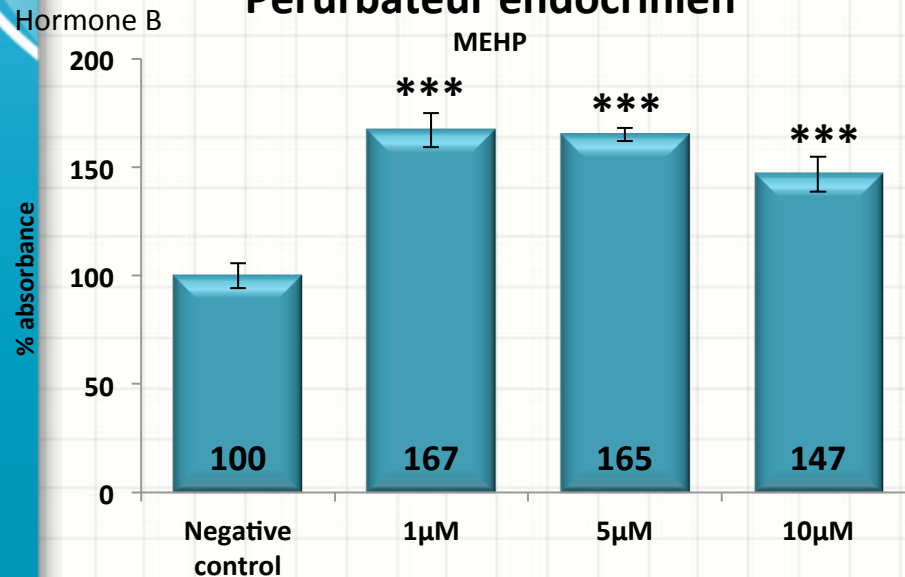
Contrôle négatif Paracétamol



Contrôle positif Activation œstrogénique



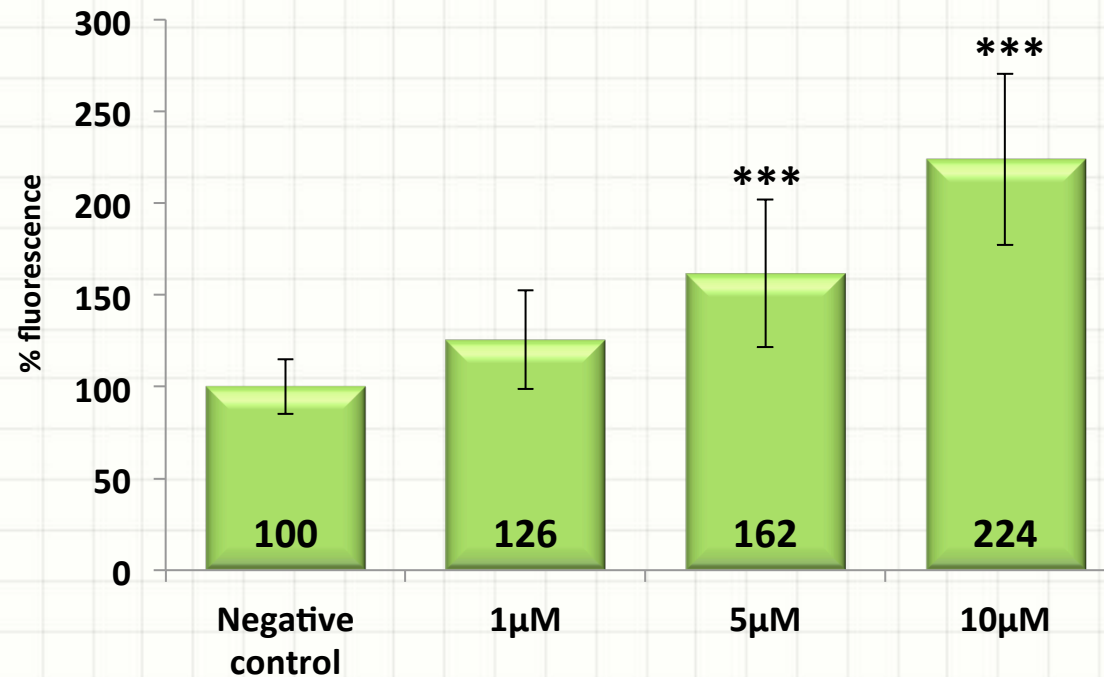
Perurbateur endocrinien



- Le MEHP augmente la sécrétion de l'hormone B
 - Effet mimétique œstrogénique
- ➔ Notre modèle met en évidence un effet PE

RÉSULTATS: ACTIVATION DE RÉCEPTEUR DE DÉGÉNÉRESCENCE PLACENTAIRE

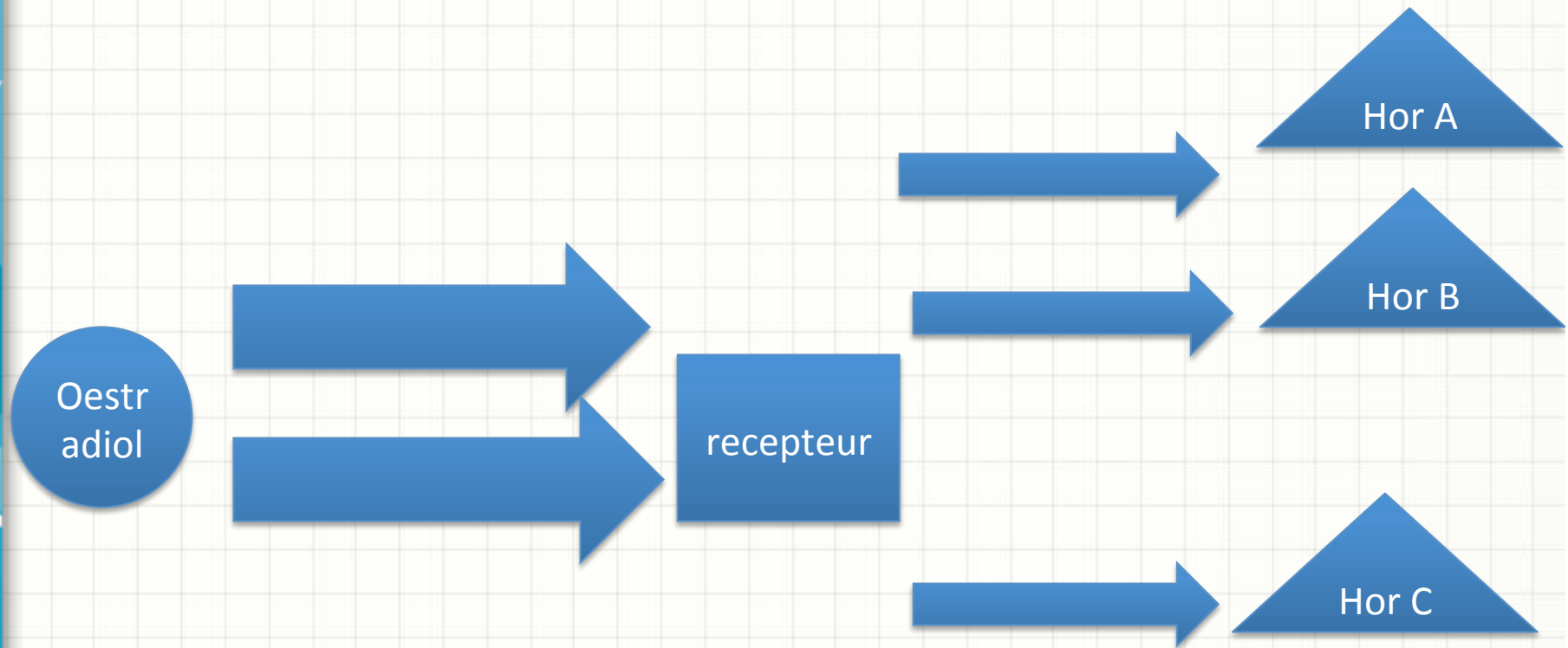
(Test de cytofluorimétrie en microplaque)



- Activation du récepteur → Dégénérescence / altération tissu placentaire
- Risque de fausse couche et développement foetal potentiellement modifié

ETUDE DES RECEPTEURS

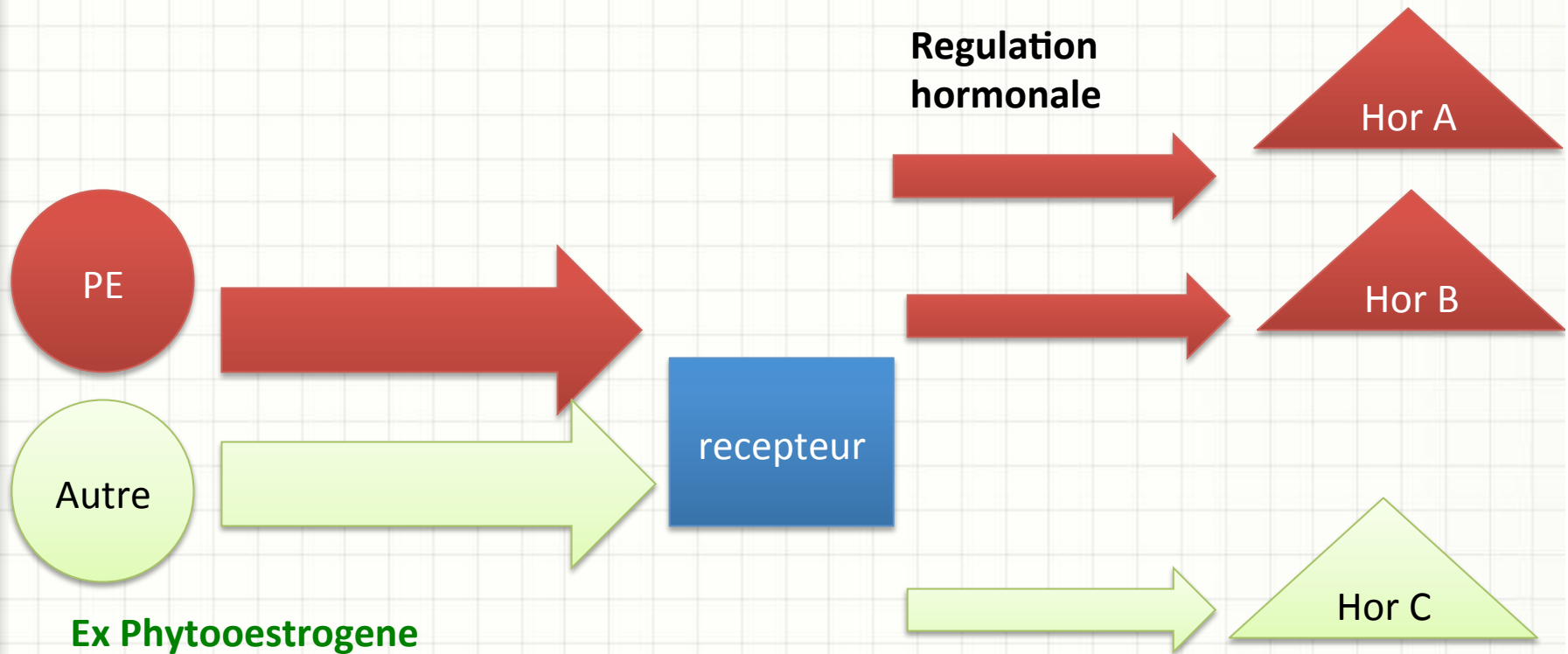
problèmes d'interprétation / aux différentes hormones activées



- L'oestradiol stimule le récepteur aux œstrogènes et déclenche des régulations sur de nombreuses hormones
- UN produit peut stimuler le récepteur sans stimuler les hormones à effets délétères

ATTENTION - ETUDE DES RECEPTEURS

problèmes d'interprétation / aux différentes hormones activées



- → 2 PRODUITS peuvent STIMULER le même récepteur
mais avoir des effets sur la régulation hormonale différents
- → **IMPORTANTANCE d'ETUDIER LES MODIFICATIONS HORMONALES FINALES**

CONCLUSION

- **Les modèles placentaires Humains** sont maintenant standardisés sur microplaques et permettent :
 - d'identifier *in vitro* un **marqueur hormonal connu en clinique** → **Sécrétion des hormones placentaires**
 - de **DEFINIR DES PROFILS HORMONAUX différents** selon les types de risques (phtalates / BaP..) indépendamment du récepteurs activés
 - de mettre en évidence un **autre biomarqueur de toxicité** → **Activation du récepteur de dégénérescence placentaire** important pour le fœtus
 - → **ce sont Elements Importants pour l'évaluation de risques**



MERCI DE VOTRE ATTENTION

Patrice.rat@parisdescartes.fr