

COLLOQUE PNRPE

PROGRAMME
NATIONAL
DE RECHERCHE
SUR LES
PERTURBATEURS
ENDOCRINIENS



● Fipronil et retardateurs de flamme polybromés :
exposition et altération des fonctions thyroïdienne et
corticosurrénalienne.



Les perturbateurs thyroïdiens/ corticosurrénaux enjeux scientifiques et sociétaux

⊙ Dix ans de recherche sur les perturbateurs endocriniens

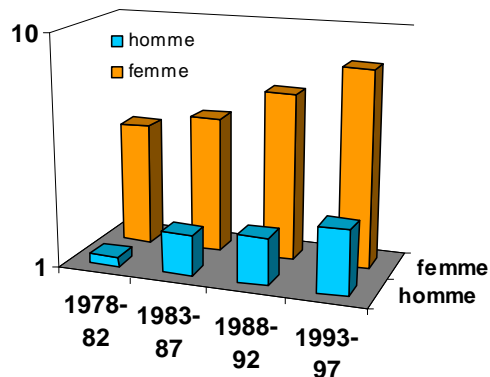
Disrup* AND Reprod*
1357 articles

Retard en matière de recherche sur
les perturbateurs thyroïdiens ?

Disrup* AND **thyroid***
313 articles

⊙ Les enjeux en termes de santé publique

⊙ Augmentation incidence pathologies thyroïdiennes dont cancer



⊙ Fonctions programmatrices: développement

⊙ Développement du système nerveux central

⊙ Dépendance du fœtus/ mère sur premiers stages de neurogenèse

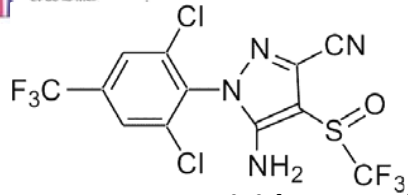
⊙ Perturbation même subtile chez la mère: troubles du développement cognitif et intellectuel de l'enfant

⊙ Besoin de modèles pertinents /l'homme

⊙ Ontogenèse du SNC

⊙ Régulation thyroïdienne

Fipronil et PBDE : perturbateurs endocriniens?



Insecticide agrovétérinaire

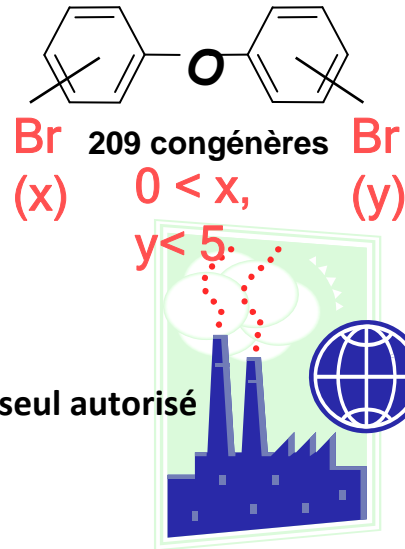
⊙ Carte d'identité

⊙ Enjeux sanitaires et sécuritaires

retardateur de prise de feu

⊙ Enjeux économiques et industriels

⊙ Restriction d'usage France et/ou UE



France usage phytosanitaire suspendu

UE DécabromoDiphényl Ether seul autorisé

⊙ Potentiel perturbateur thyroïdien

⊙ Augmentation incidence tumeurs de la thyroïde chez le rat

⊙ Diminution de T4 libre et totale rat et augmentation de la TSH

⊙ Augmentation de la clairance biliaire de la T4

⊙ Métamorphose des batraciens

⊙ Diminution de T4 libre rat

⊙ Interaction avec protéines de transport des HT in vivo et in vitro

⊙ Liaison aux récepteurs des HT

⊙ Métabolisme hépatique HT

Contribution à l'analyse du risque pour la santé humaine: approche multidisciplinaire et intégrative

⊙ **Fipronil**

⊙ **PBDE**

⊙ **Caractérisation de l'exposition**

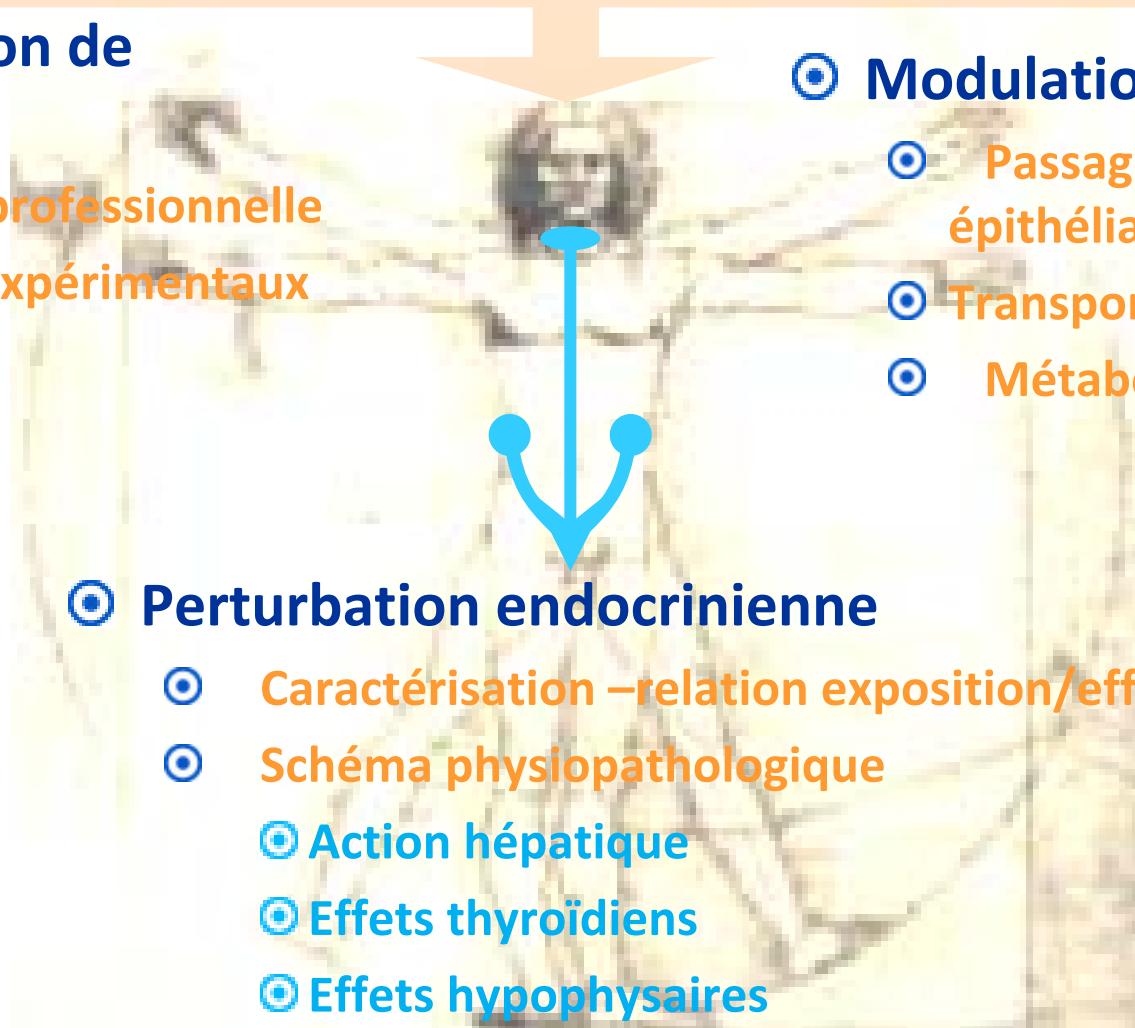
- ⊙ **Humaine professionnelle**
- ⊙ **Modèles expérimentaux**

⊙ **Modulation exposition**

- ⊙ **Passage de la barrière épithéliale**
- ⊙ **Transport cellulaire**
- ⊙ **Métabolisme**

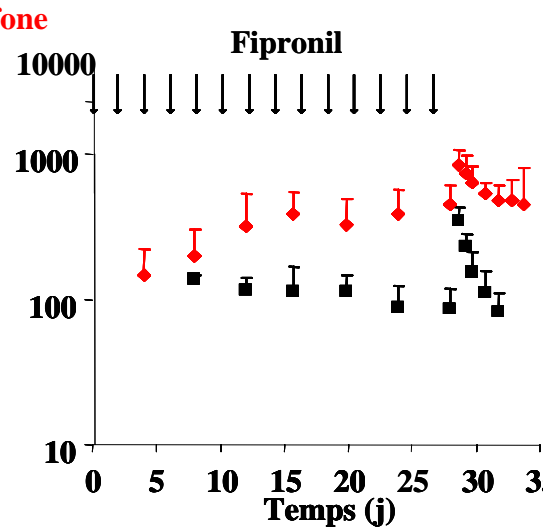
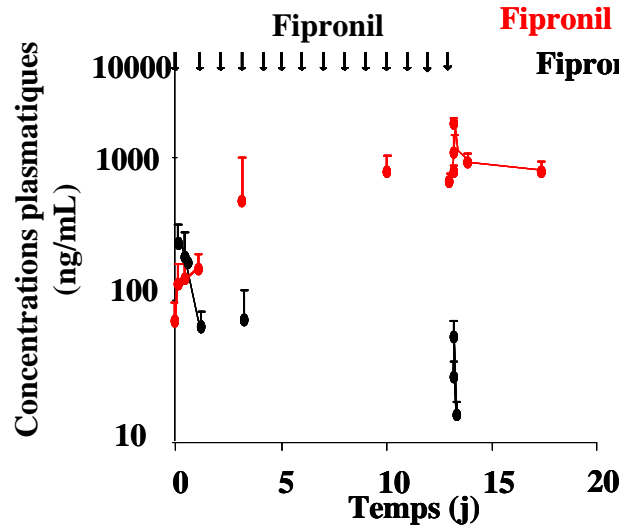
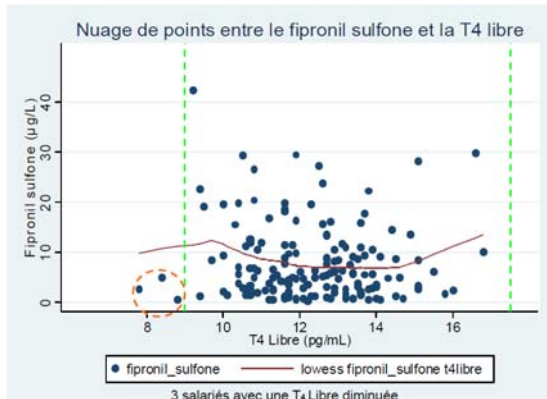
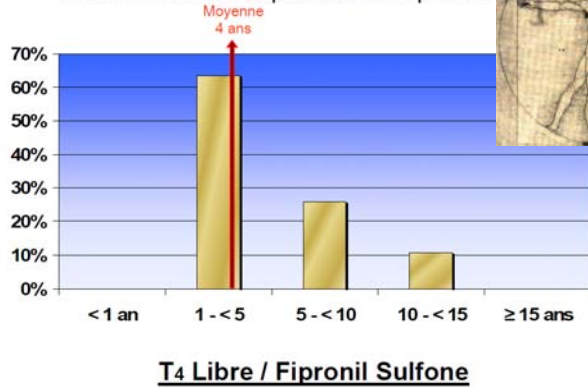
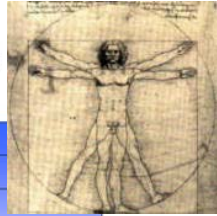
⊙ **Perturbation endocrinienne**

- ⊙ **Caractérisation –relation exposition/effet**
- ⊙ **Schéma physiopathologique**
 - ⊙ **Action hépatique**
 - ⊙ **Effets thyroïdiens**
 - ⊙ **Effets hypophysaires**



Caractérisation de l'exposition interne: toxicocinétique comparative d'espèces

- Caractéristiques professionnelles
 - ancienneté de l'exposition au fipronil:



Toxicology Letters (janvier 2010)

Sulfone/FIP

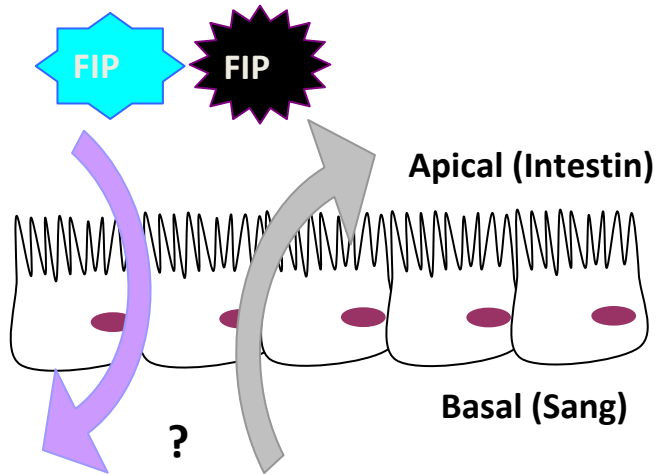
16

>200

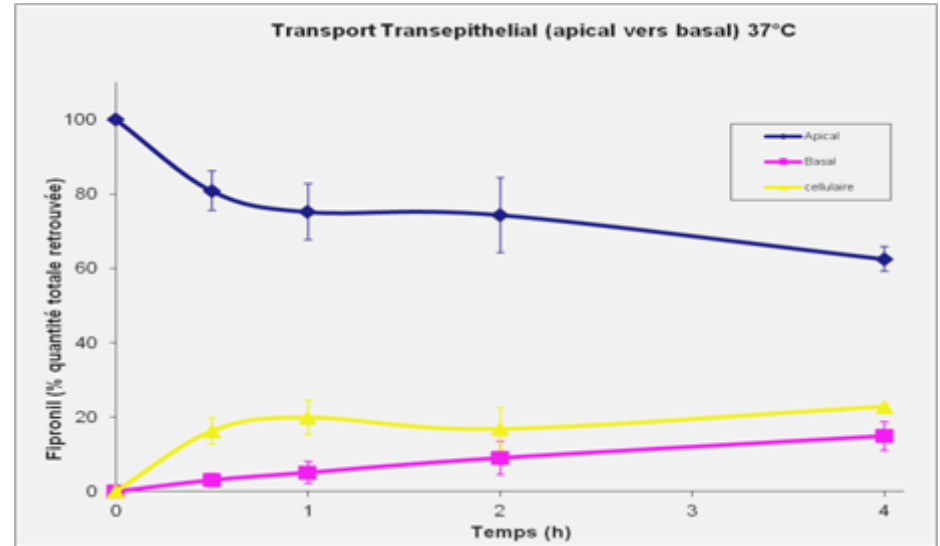
2-5

Modulation de l'exposition: Passage de la barrière digestive

Modèle cellulaire: CACO II



Passage transépithélial du fipronil



Cellules Adénocarcinome colorectal humain

Caractéristiques

- Cellules polarisées (entérocytes)
- Monocouche étanche aux ions et aux molécules
- Expression de transporteurs

Toxicology in vitro. 2009 23(4)

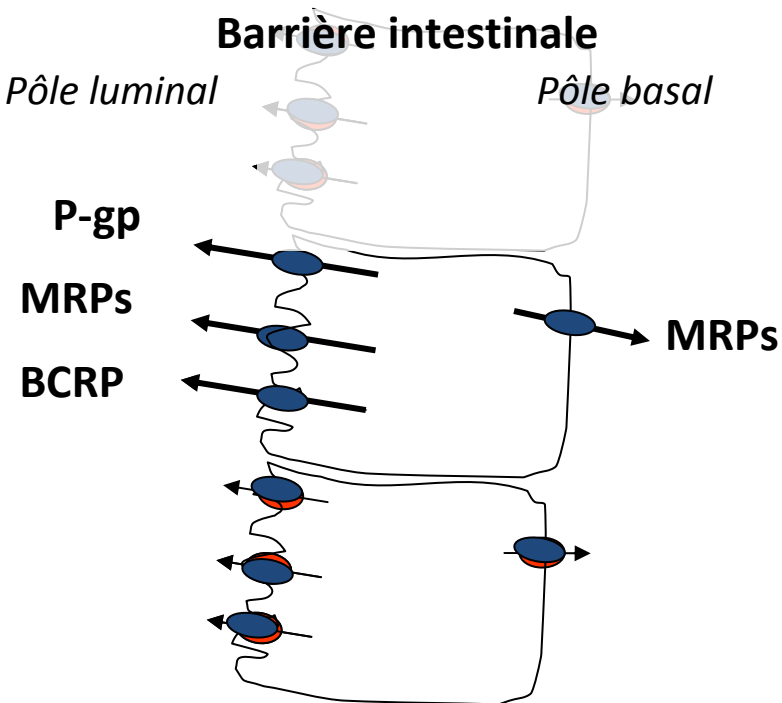
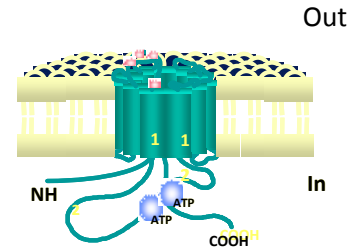
Transport Apico basal: +++

Transport baso-apical: ±

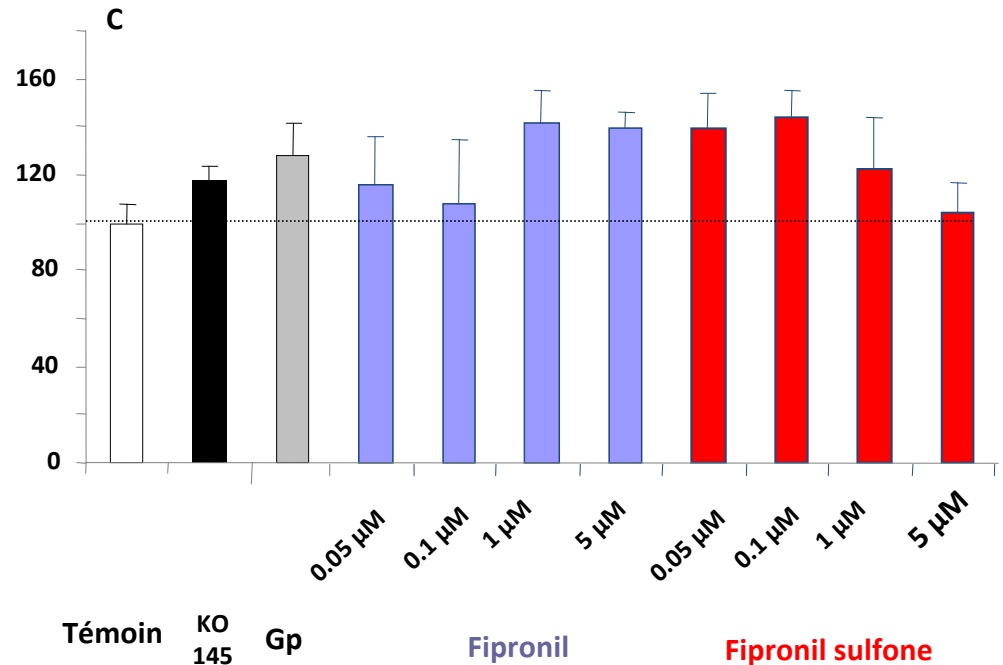
- Transport passif + actif
- Fraction absorbable importante
- Interaction avec des transporteurs?

Modulation de l'exposition: interaction avec les transporteurs pompes à efflux

- Efflux actif des xénobiotiques (Phase III)
- Polychimiorésistance : P-glycoprotéine (P-gp), MRPs, BCRP
- Localisation sur barrières physiologiques



Effet du fipronil et de son métabolite sur l'accumulation d'un substrat des BCRP



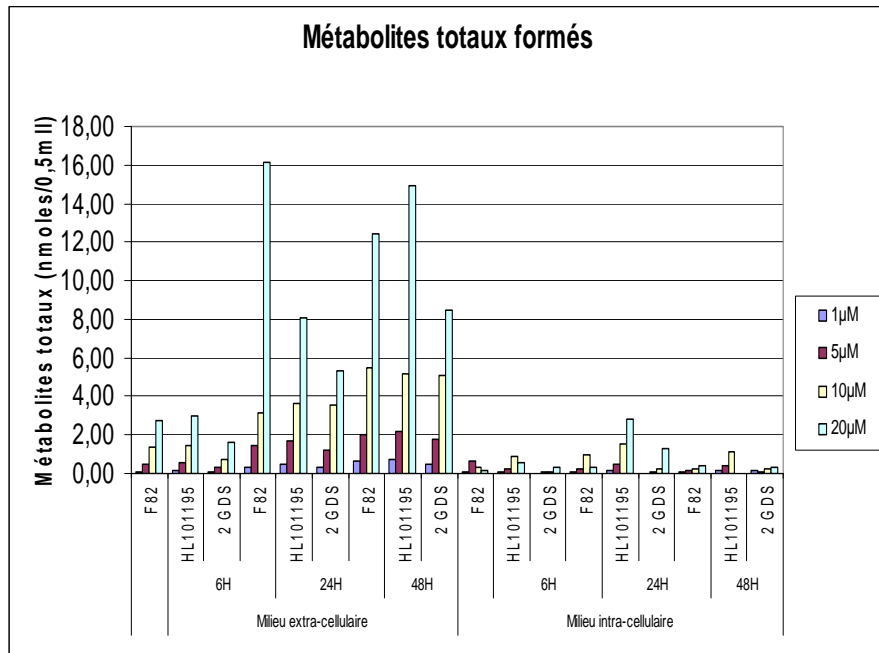
Modulation de l'exposition: Métabolisme

⊙ Métabolisation *in vivo* (dose unique)

⊙ Métabolisation du fipronil *in vitro*: hépatocytes

⊙ Métabolisation du fipronil par des hépatocytes humains en culture

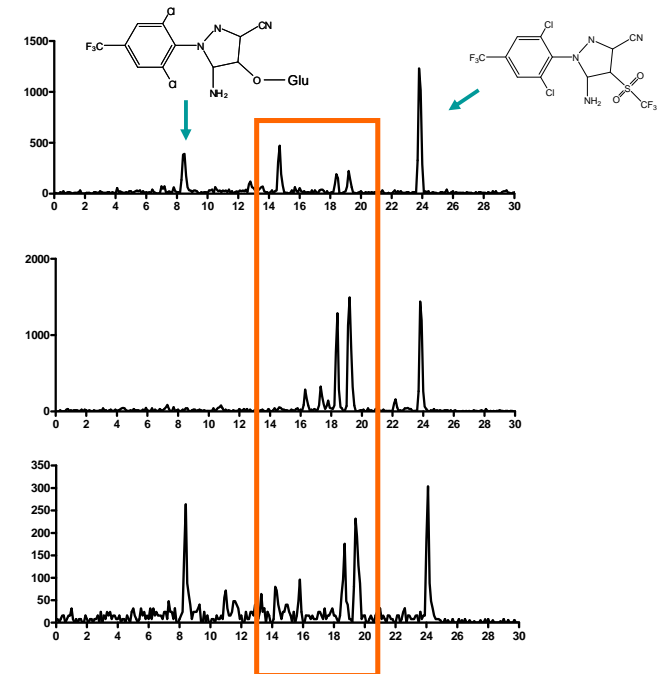
⊙ Radiochromatogramme du fipronil et de ses métabolites sur cultures hépatocytaires



Rat

Humain

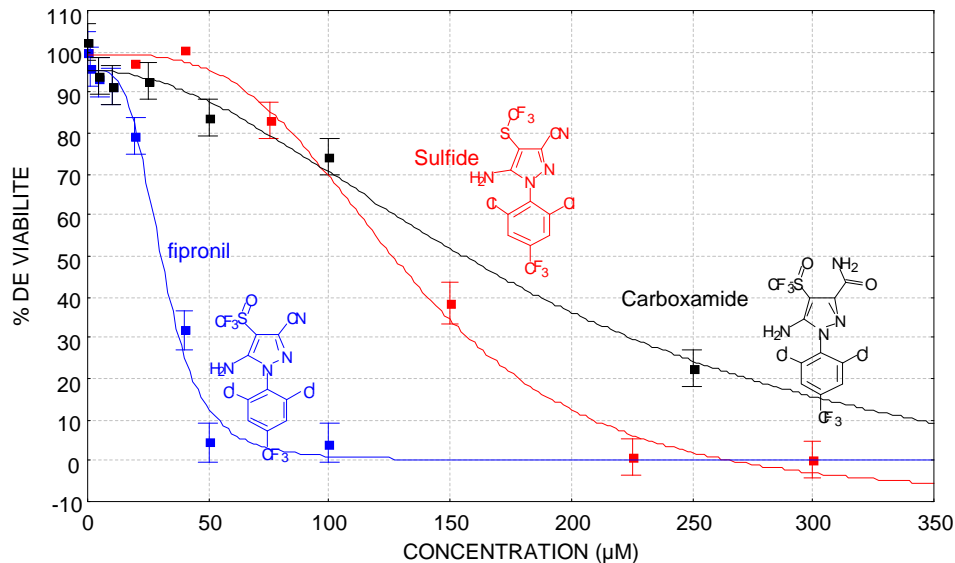
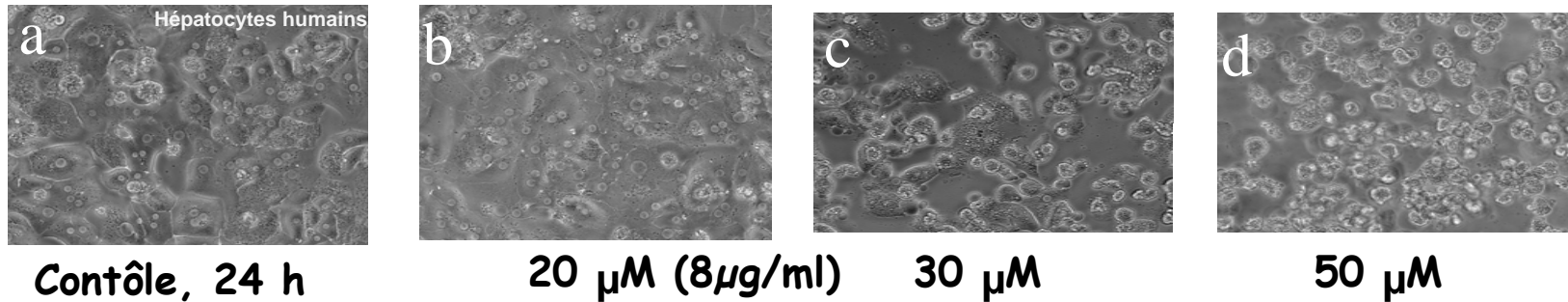
Souris



Métabolites extracellulaires >> intracellulaires (homme –rat)

Différences inter-espèces qualitatives et quantitatives dans les profils métaboliques du fipronil

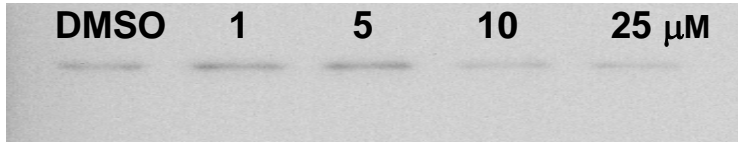
⊙ Cytotoxicité (hépatocytes humains en culture)



	IC 50 μM ($\mu\text{g}/\text{ml}$)
Fipronil	30 (13)
Sulfone	15 (7)
Sulfide	125
Carboxamide	150

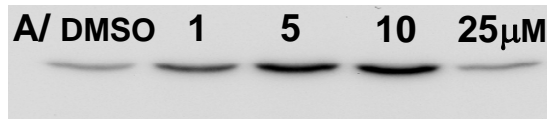
Impacts sur l'expression des CYP sur hépatocytes humains

CYP1A1/2

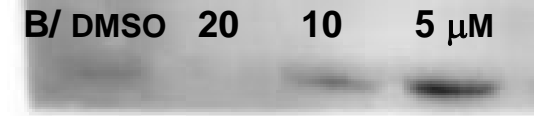


Augmentation dose dépendante
de l'expression du CYP 3A4

CYP3A4

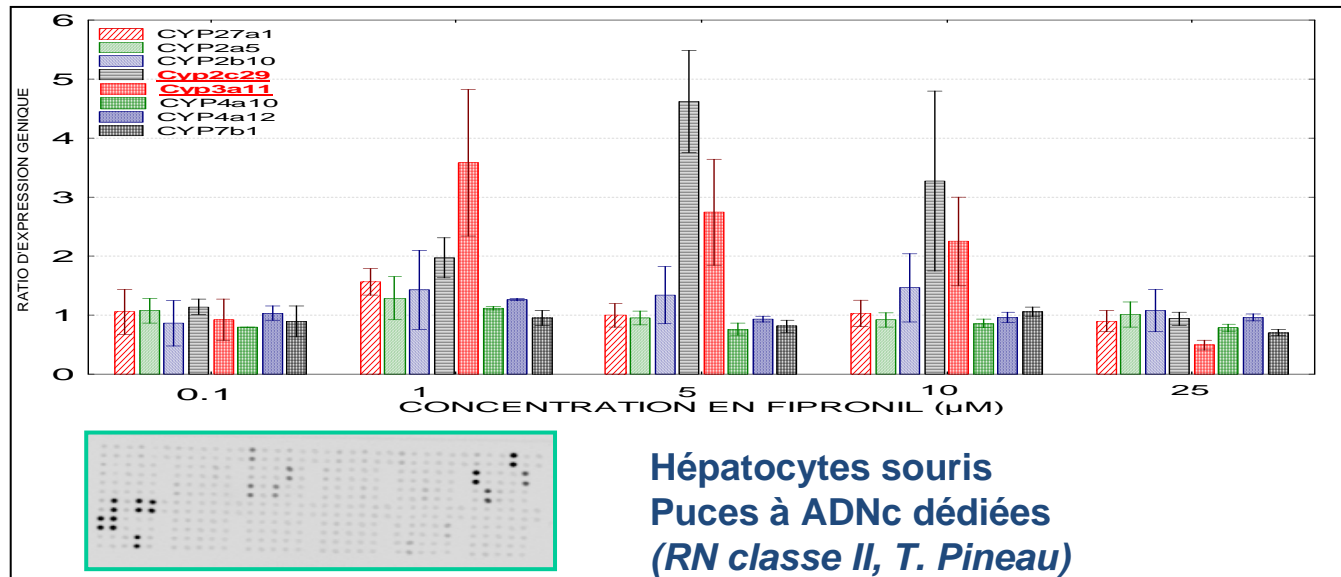


Effet du Fipronil



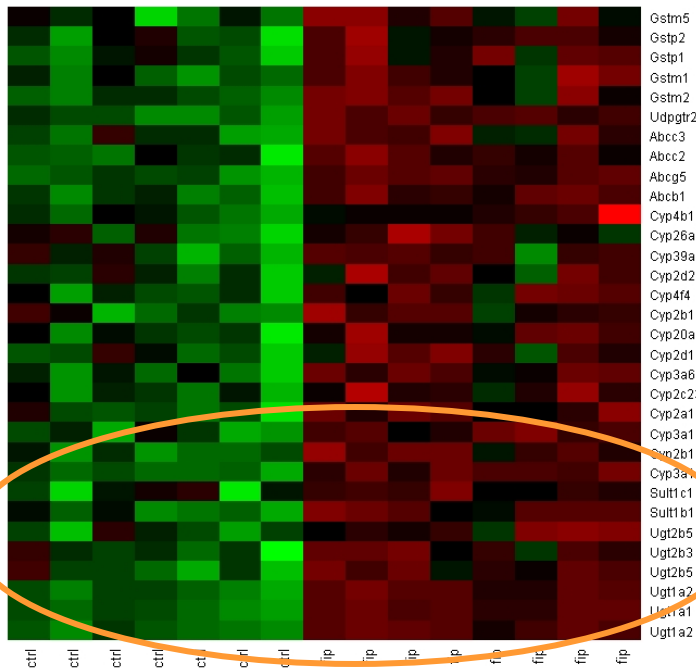
Effet du dérivé sulfone

Impacts sur le transcriptome d'hépatocytes de souris

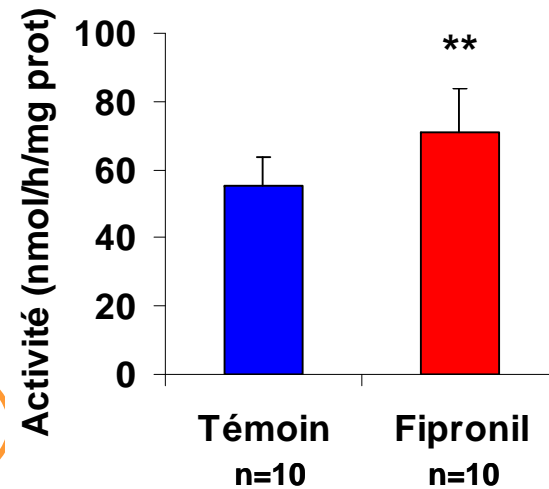


Perturbation endocrinienne: cible hépatique

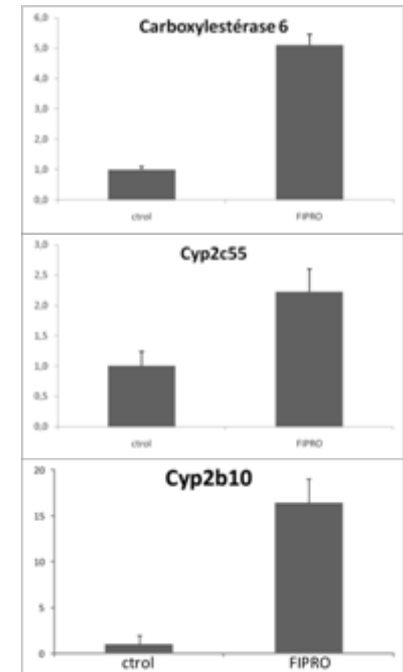
○ Criblage génomique (rat)



○ Activité tissulaire UDPGT (paranitrophenol)



○ Implication de récepteur nucléaire des xénobiotiques (souris)?



Surexpression de gènes cibles de CAR

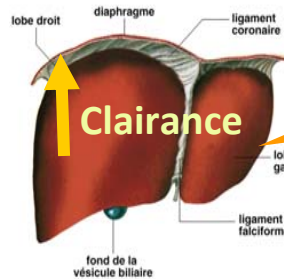
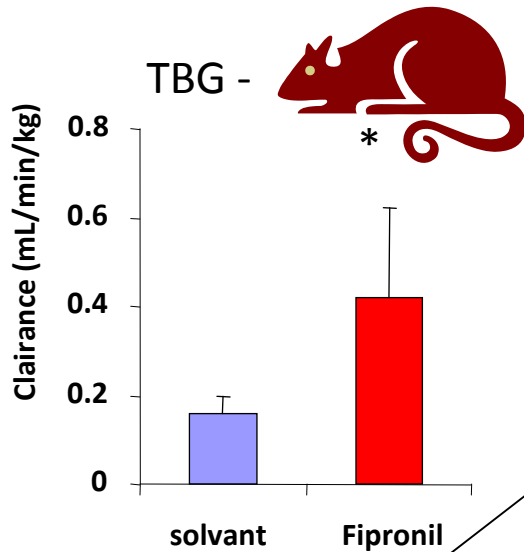
Régulation de gènes du métabolisme hépatique des hormones/ xénobiotiques par le Fipronil dont des enzymes de conjugaison des hormones thyroïdiennes

⊙ Caractérisation –relation exposition/effet

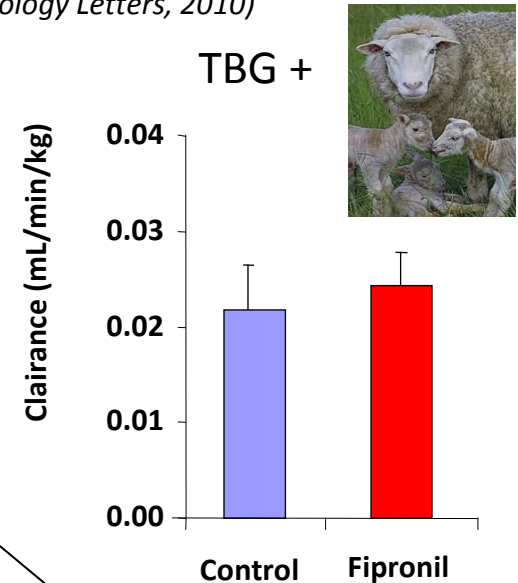
⊙ Pertinence modèles animaux/ expression des protéines de liaison des HT

⊙ Effets du fipronil sur la clairance de T4

(Leghait et al., Toxicology, 2009)



(Leghait et al., Toxicology Letters, 2010)



⊙ Différences interspécifiques

Toxicocinétiques:

Sulfone rat >> Sulfone mouton

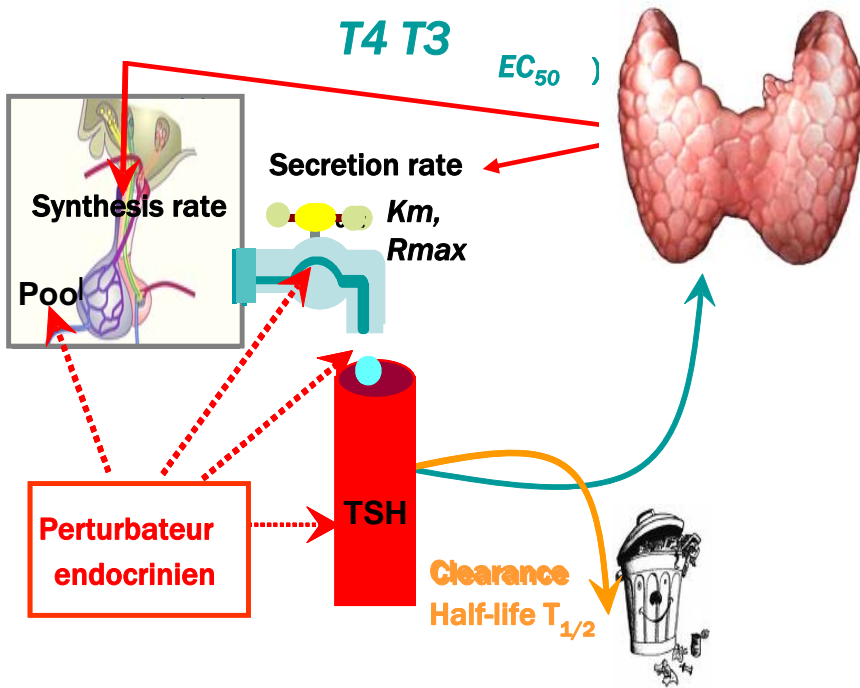
Toxicologie comparative du fipronil et de son métabolite

Mécanismes compensateurs :

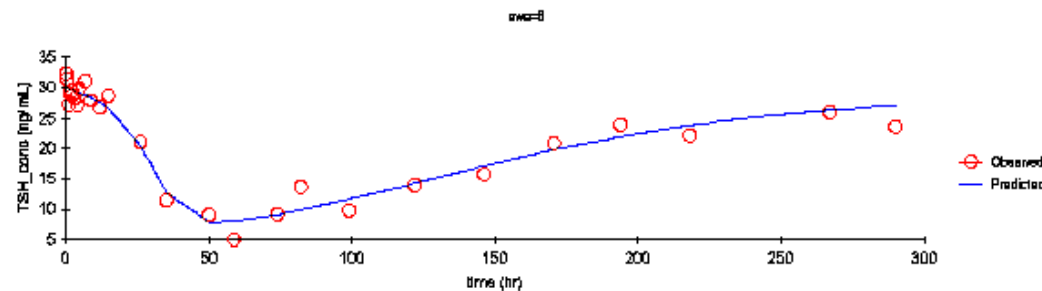
Exploration des autres niveaux de régulation de la fonction thyroïdienne

Impact du fipronil sur la régulation hypophysaire de la fonction thyroïdienne

Approche modélisatrice de la régulation de la sécrétion de TSH

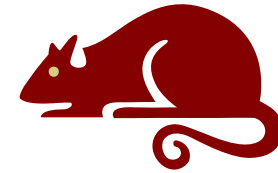


	Fipronil	Control
Taux synthèse TSH ($\mu\text{g}/\text{kg}/\text{h}$)	4.4 ± 2.5	4.2 ± 0.9
Taux maximal libération ($\mu\text{g}/\text{kg}/\text{h}$)	5.1 ± 2.8	5.3 ± 2.4
EC_{50} T4/synthèse (ng/ml)	4.4 ± 2.8	4.9 ± 3.4
EC_{50} T4/ libération (ng/ml)	3.0 ± 4.2	1.0 ± 0.9

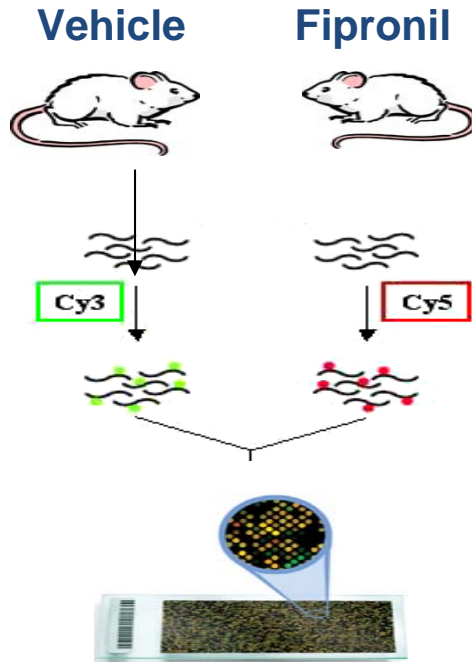


Impact du fipronil sur la glande thyroïde

Approche par criblage génomique chez le rat

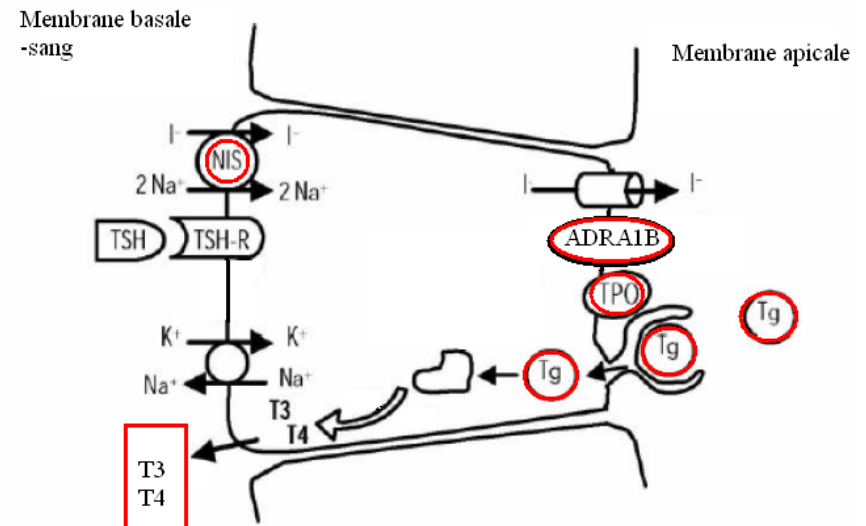


Puces pangénomiques (Adgilent) hybridation compétitive

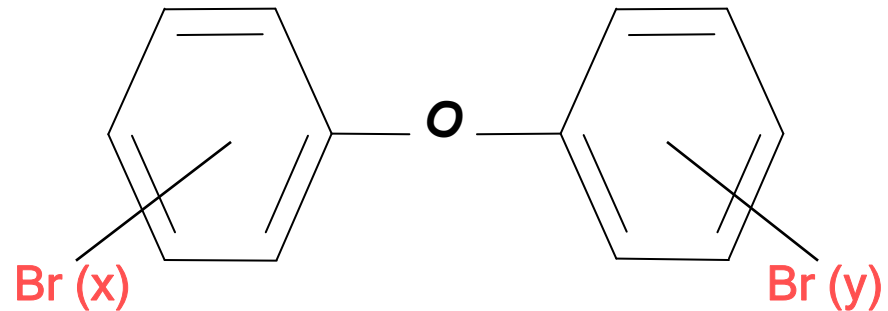
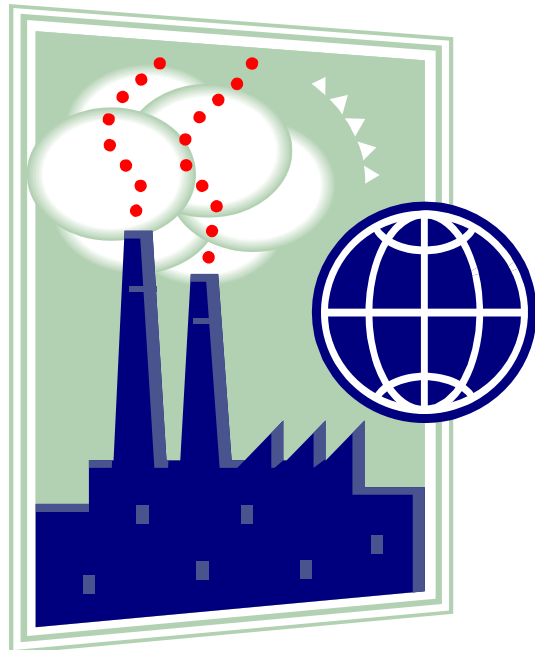


Compensation thyroïdienne

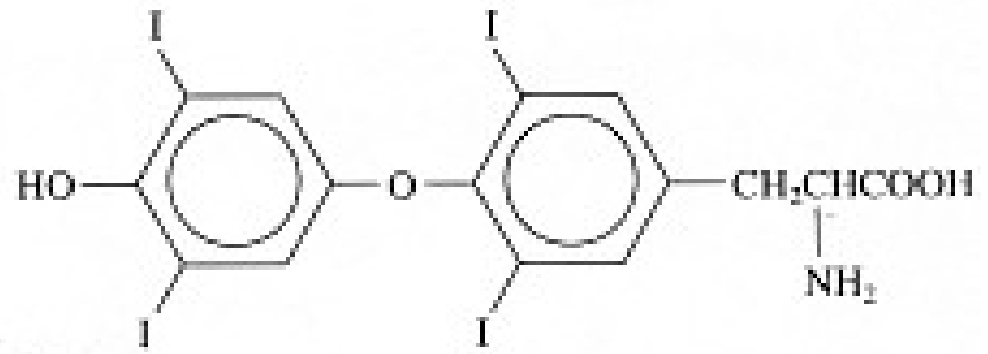
- Transport iode (NIS)
- Synthèse hormones thyroïdienne (TGO – Tg)
- Récepteur α -adrénergique



PBDE



$$0 < x, y < 5$$



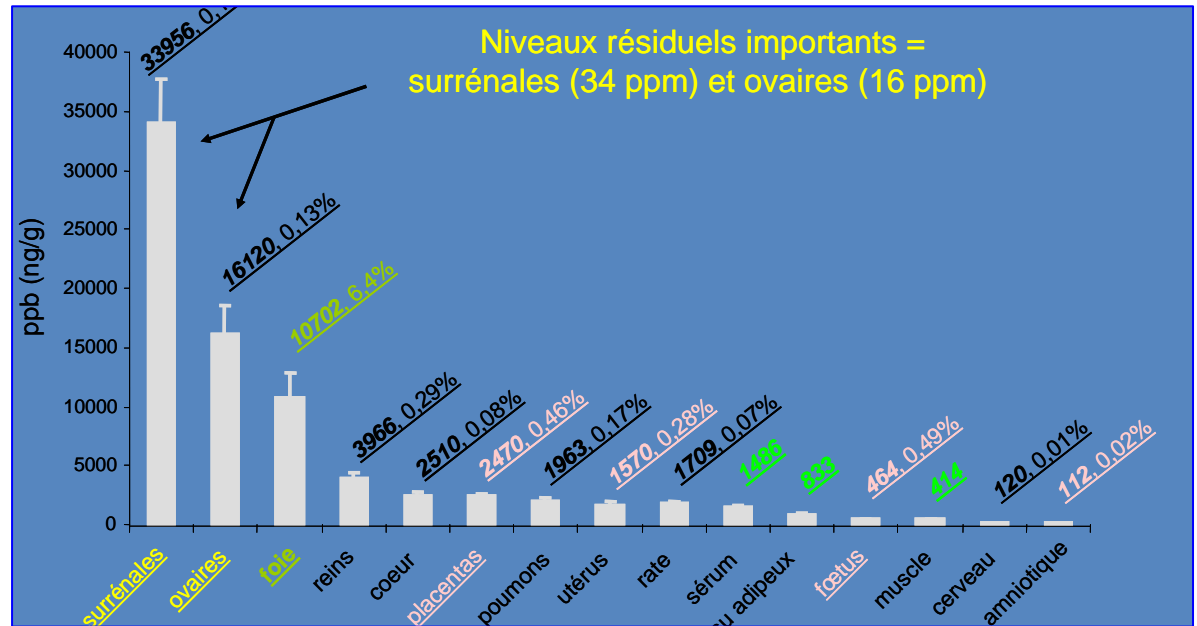
Cholestero ($\mu\text{g}/\text{fraction}$)

VLDL LDL HDL LPDF

$^{14}\text{C-DBDE}$ (dpm/fraction)

Modulation de l'exposition: Métabolisme

Imprégnation tissulaire au DBDE et résidus



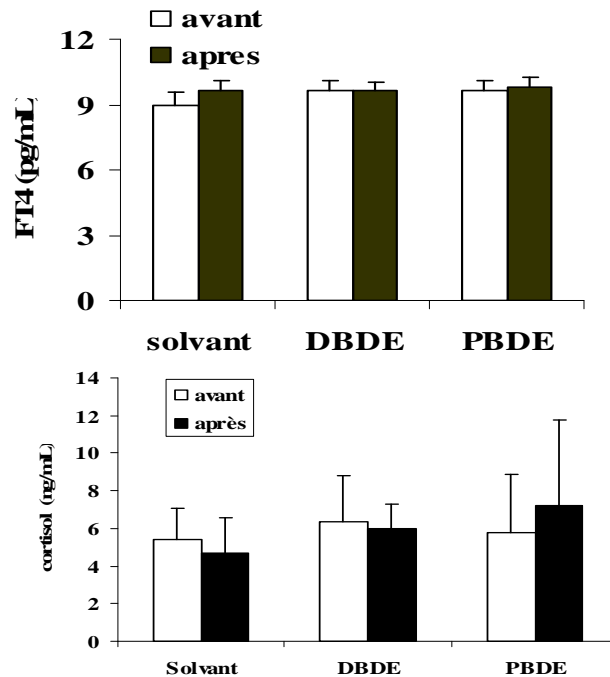
Bilan métabolique

- Absorption *ca.* 20%
- Tissus cibles = glandes endocrines
- 10 à 30 % de métabolites dans les tissus
- nona-BDEs
- octa-BDEs
- hepta-BDE
- octa et hepta-BDEs hydroxylés ?

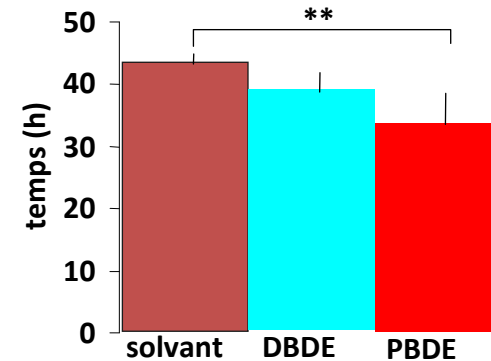
Perturbation endocrinienne



Pharmacocinétique de la thyroxine (J 38)



Temps de demi-vie de la T4 libre



- Modification des paramètres PK = interaction avec des protéines de liaison spécifiques?
- Pas de conséquence sur les profils endocriniens = compensation?



Valorisation et perspectives



Publications scientifiques

- Julien Leghait, Véronique Gayrard, Nicole Picard-Hagen, Marion Camp, Elisabeth Perdu, Pierre-Louis Toutain, Catherine Viguié. *Toxicology*. 2009, 255(1-2):38-44.
- Julien Leghait, Véronique Gayrard, Pierre-Louis Toutain, Nicole Picard-Hagen, Catherine Viguié *Toxicology Letters* (janvier 2010)
- Cyril Vidau, Jean-Luc Brunet, Alexandra Badiou, Luc P. Belzunces. *Toxicology in vitro*. 2009, 23(4): 589-597
- Anne Riu, Jean-Pierre Cravedi, Laurent Debrauwer, Aurélie Garcia, Cécile Canlet, Isabelle Jouanin, Daniel Zalko. *Environment International*. 2008, 34: 318–329
- Bichon E, Richard CA, Le Bizec B *J Chromatogr A*. 2008, 1201(1):91-99.

Méthodes génériques

Approche modélisatrice d'une fonction endocrinienne

Clairance hormone libre= biomarqueur + précoce et sensible que profils concentrations hormonales (compensation thyroïdienne)

Perspectives

- Rôle des récepteurs nucléaires dans la perturbation thyroïdienne
- Toxicologie comparative du fipronil et de ses métabolites