



Etude des faibles doses en toxicologie des produits chimiques

Francelyne Marano

**Laboratoire de Cytophysiologie et Toxicologie cellulaire
Université Paris 7 Denis-Diderot**

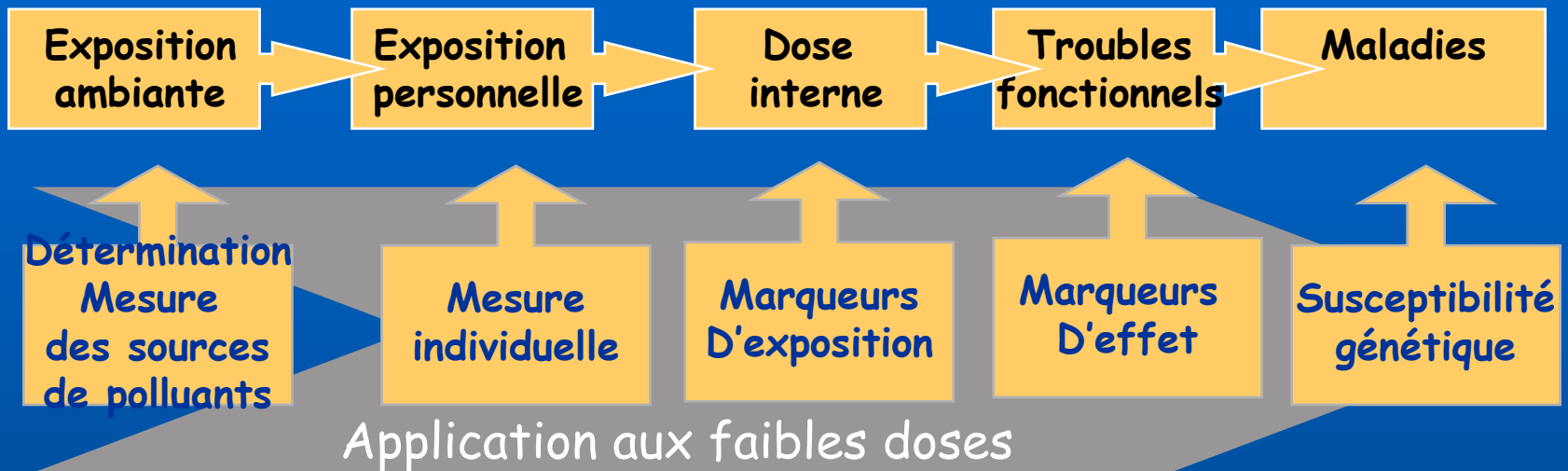
Les faibles doses: un problème crucial en toxicologie environnementale...

Pour la majorité des contaminants chimiques environnementaux (50 000 molécules d'usage courant)

- ✓ Métaux dont métaux lourds (Pb,Hg...), métaux de transition (Fe, Cd...)
- ✓ Molécules organiques: HAP, dioxine, résidus de médicaments, d'hormones, pesticides, produits ménagers, toxines dont mycotoxines...
- ✓ Particules atmosphériques, amiante, nanoparticules.

Exposition multiple

Exposition répétée



→
Mécanismes de toxicité
Etablir un lien de causalité

Sources d'information et prédiction de la toxicité humaine

- ✓ Enquêtes épidémiologiques
- ✓ Essais chez des volontaires
- ✓ Essais de toxicité chez l'animal

Toxicité aiguë

Toxicité sub-chronique et chronique:

LOEL(Low Observed Effect Level),

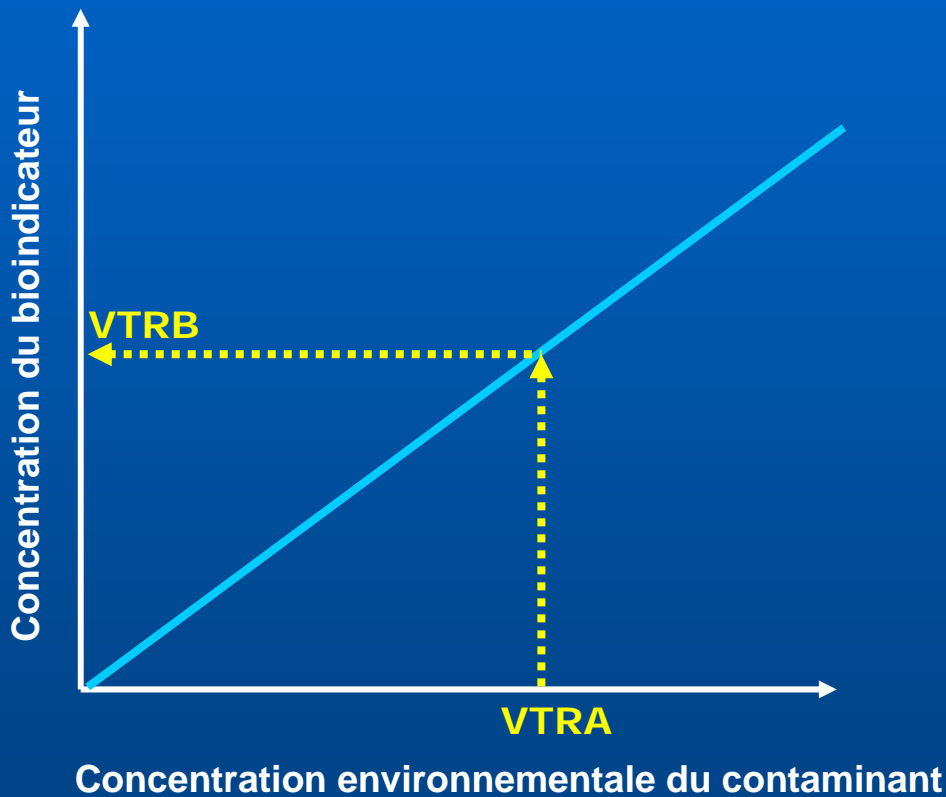
NOEL (No Observed Effect Level)

- ✓ Tests *in vitro* (méthodes alternatives)

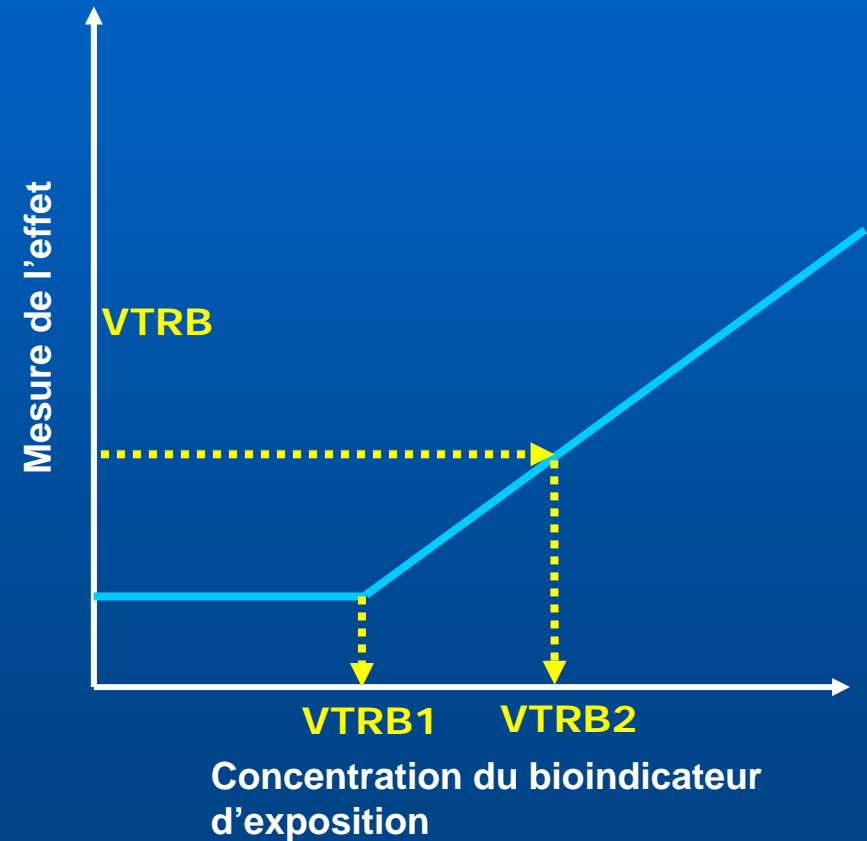
Extrapolations inter-espèces,

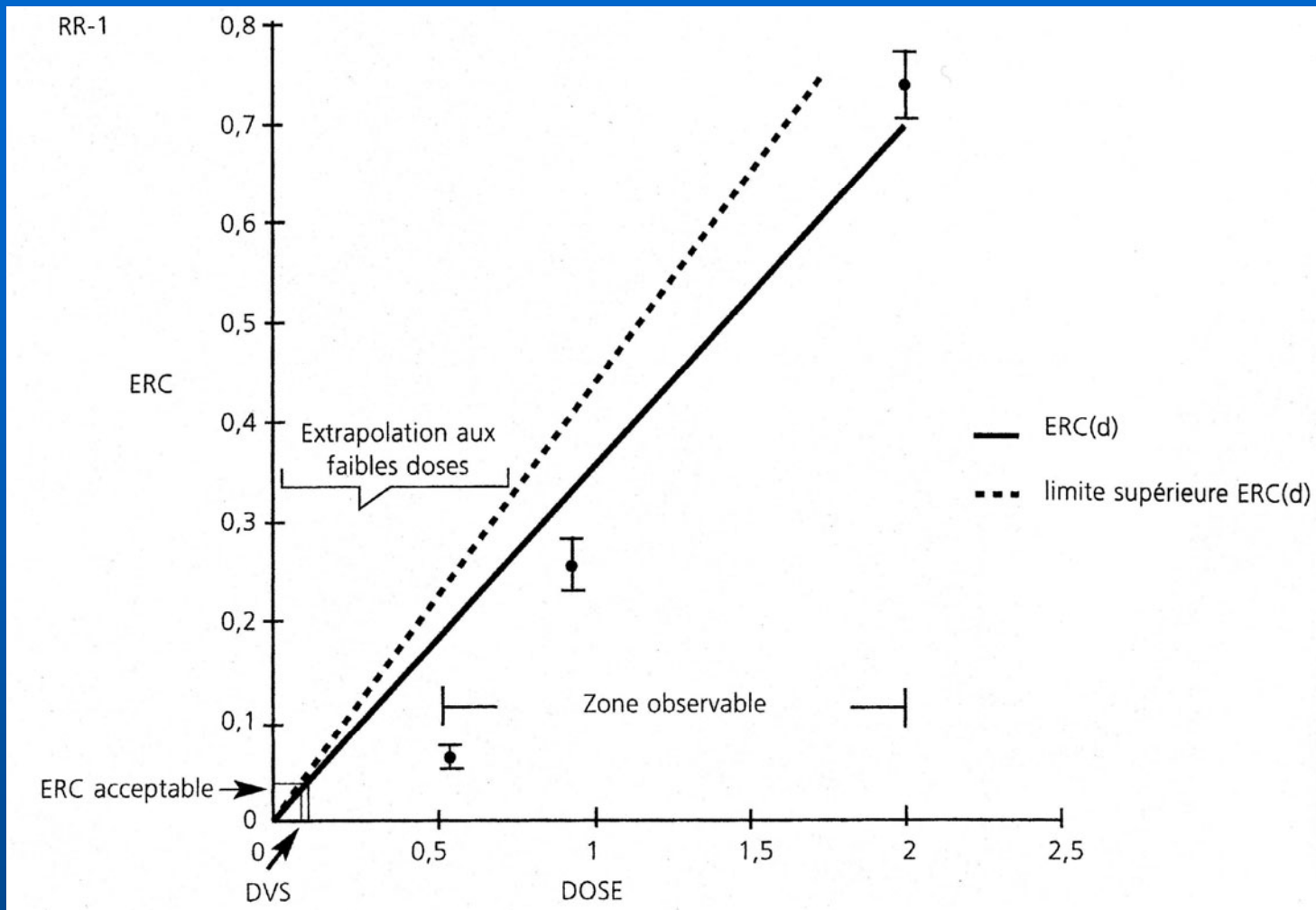
Doses fortes/doses faibles

Détermination d'une Valeur Toxicologique de Référence (VTR) à partir de la relation dose interne - dose externe



Détermination d'une Valeur Toxicologique de Référence à partir de la relation dose effet - dose interne





Extrapolation de l'excès de risque de cancers (ERC) en fonction de la dose (d), DVS (dose virtuellement sûre) de hautes à faibles doses: modèle de régression linéaire (Gérin et coll 2003)

De la réponse adaptative à la toxicité: le concept d'hormésis revisité

« la réponse hormétique est biphasique :
à faible dose, une réponse adaptative
potentiellement bénéfique
à forte dose, une rupture de l'homéostasie
conduisant à la toxicité »

Etude des mécanismes de toxicité

Calabrèse 2004, Rietjens et Alink 2006

Stress cellulaire

Xénobiotiques

Intermédiaires réactifs

Réponse de la cellule au stress

Dommmages sévères

Nécrose

Dommmages irréparables

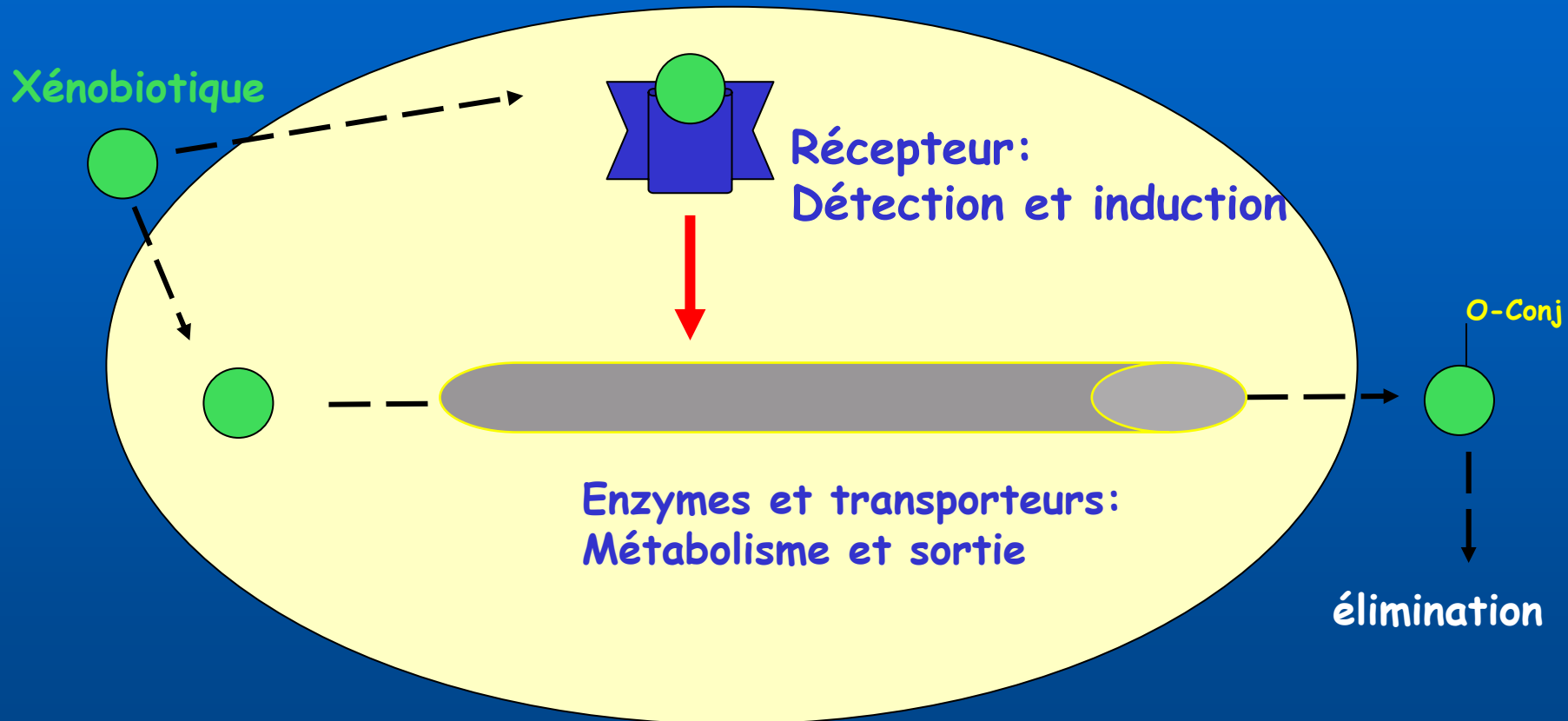
Apoptose

Modulation de l'expression des gènes

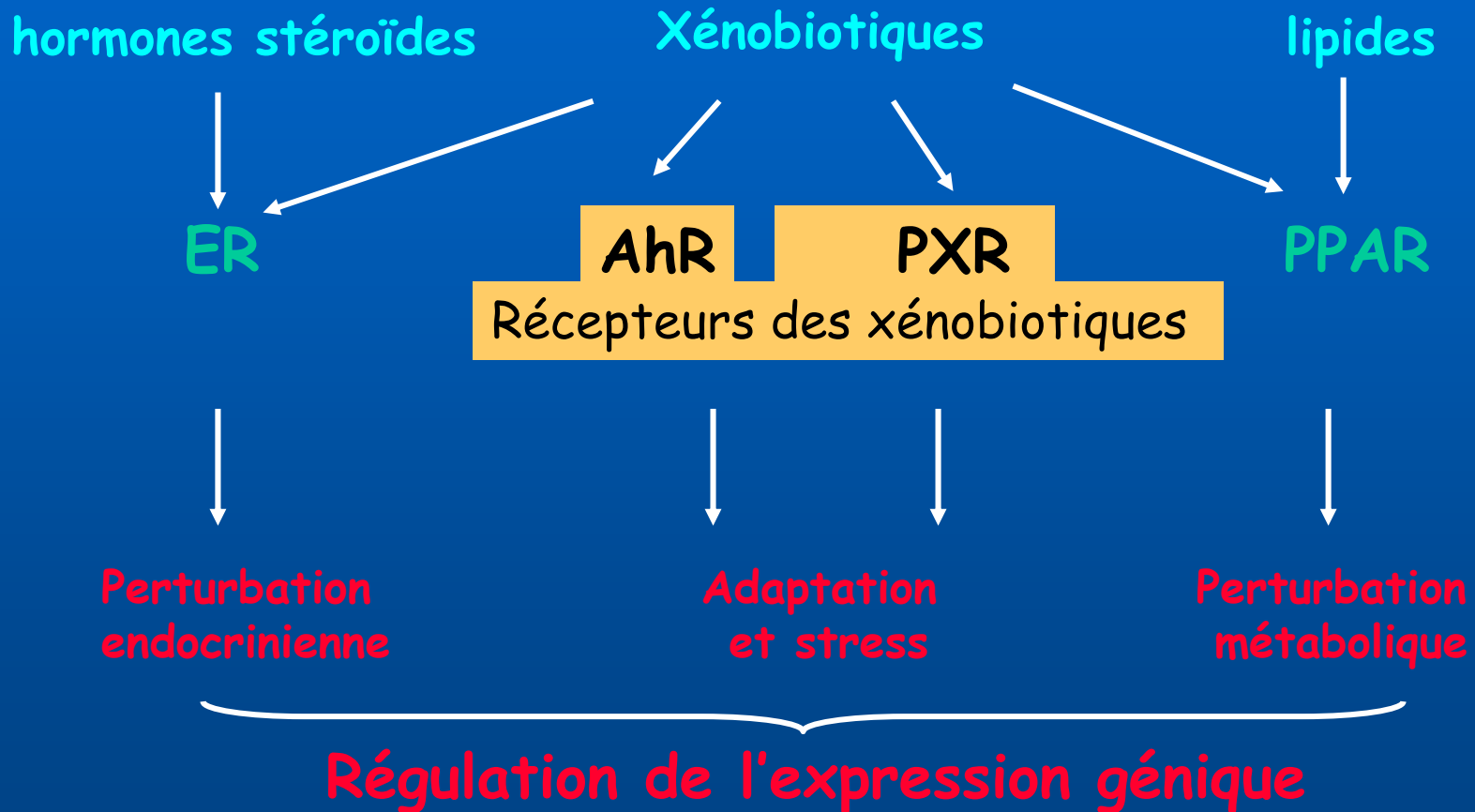
Adaptation :
Gènes de défense
Enzymes du métabolisme
Enzymes anti-oxydantes
Gènes de réparation de l'ADN

Stress d'exposition aux xénobiotiques

Barouki et coll 2006



Les récepteurs légitimes et illégitimes des xénobiotiques



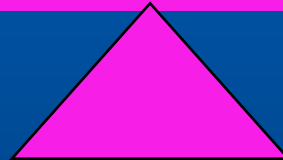
Xénobiotiques pro-oxydants



**EAO:
espèces
activées**

de l'oxygène

Anti-oxydants

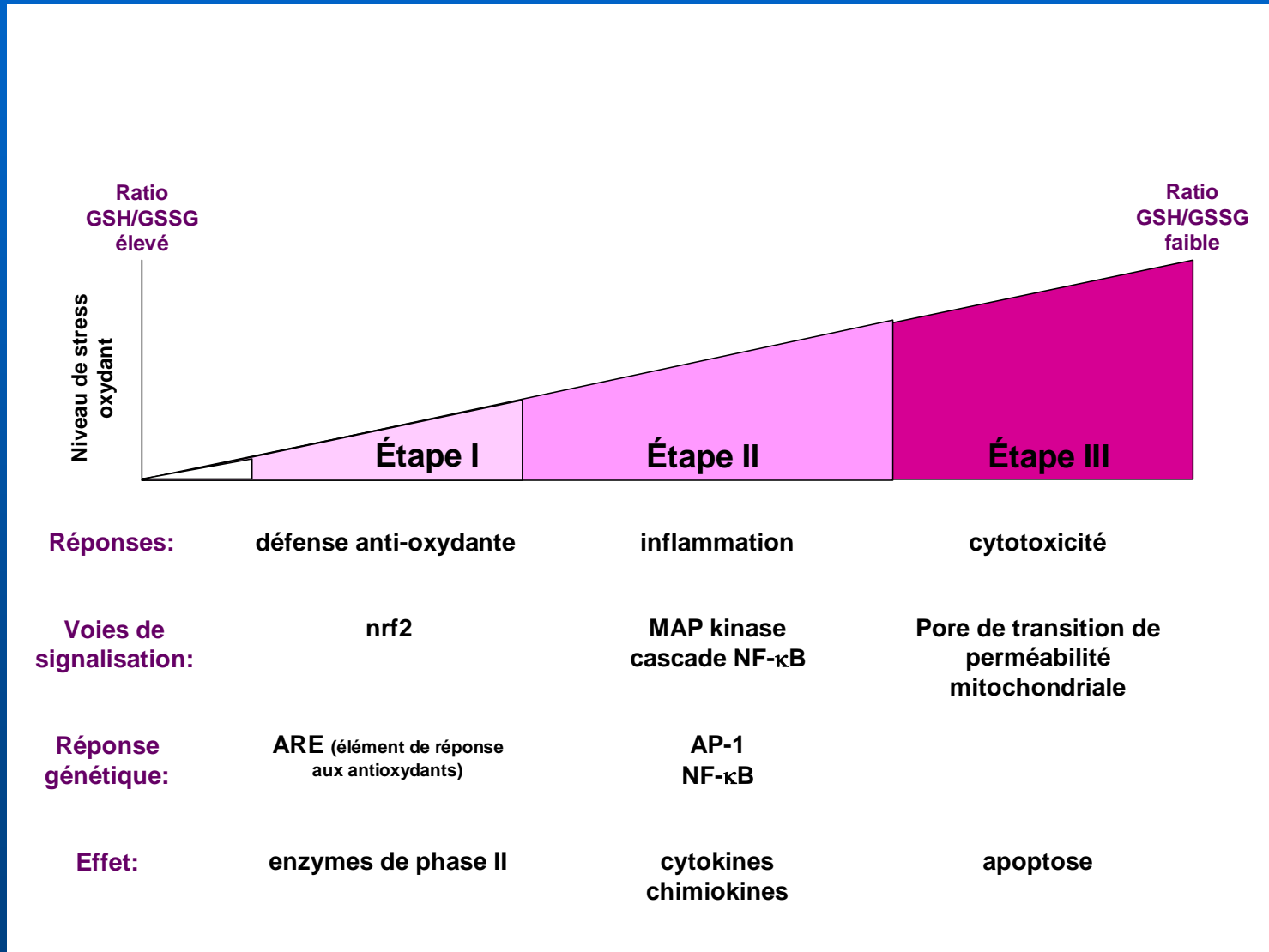


Si déséquilibre:



STRESS OXYDANT

La réponse au stress oxydant : un mécanisme multiétape (Nel et al 2006)

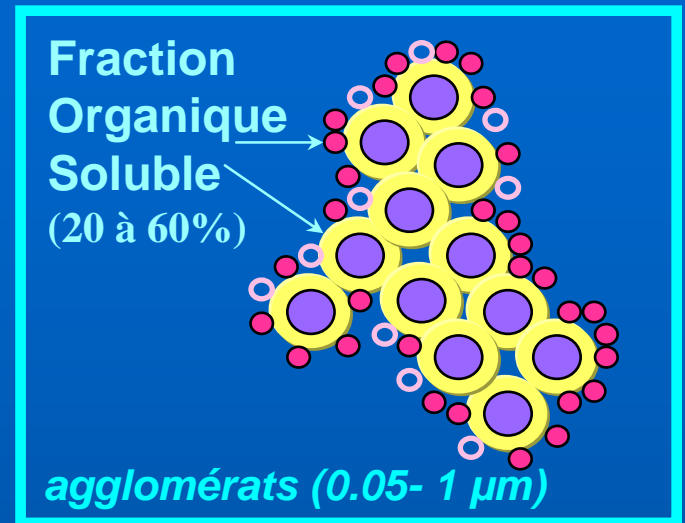


Un exemple d'analyse des mécanismes d'action de toxiques complexes:

**Rôle des composés organiques
dans la toxicité des particules Diesel**

**Recherche de marqueurs d'exposition
et de marqueurs d'effets**

Pourquoi les particules Diesel ?



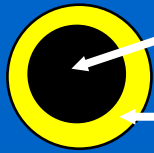
✓ Etudes épidémiologiques :

- ✦ $[\text{PM}_{10}]$ ~ mortalité et morbidité
- ✦ aggravation des maladies respiratoires allergiques

✓ PDi : composante majeure des PM_{10}

PDi / cellules épithéliales → réponse inflammatoire

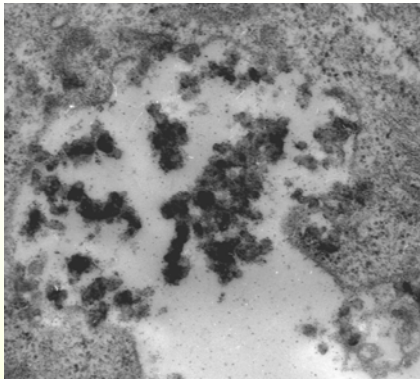
PDi



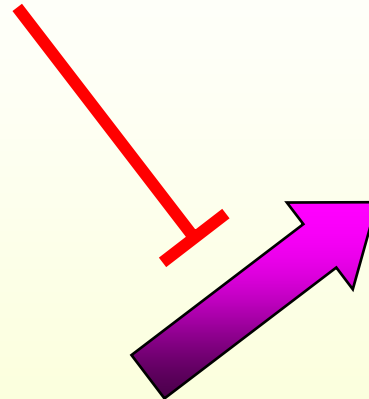
Cœur carboné

Composés organiques

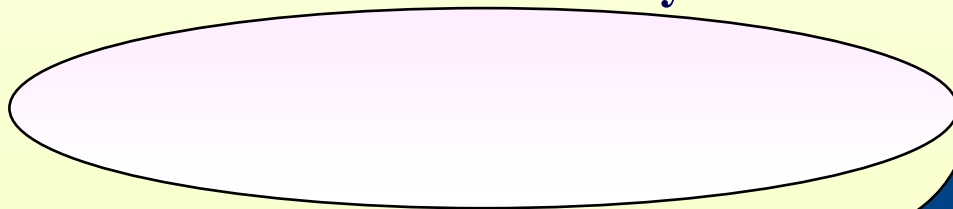
phagocytose



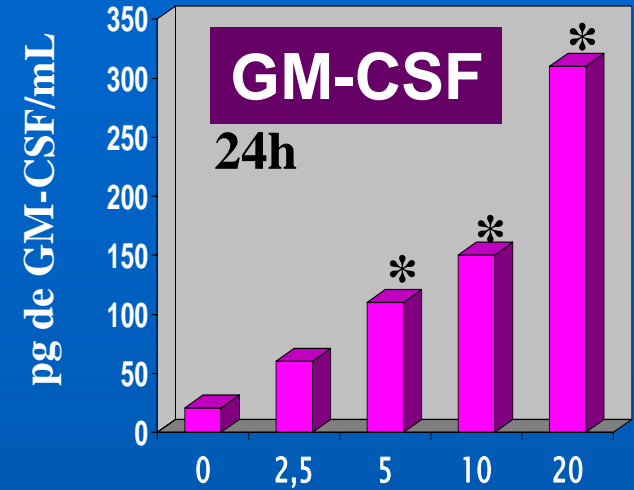
- Inhibiteurs des MAP kinases
- anti-oxydants



ARNm des cytokines



membrane basale



Cytokines PDi (µg/cm²)

IL1β

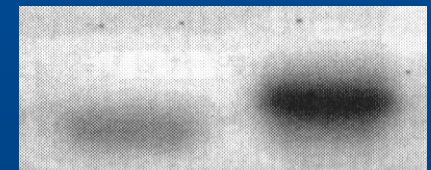
IL8

GM-CSF

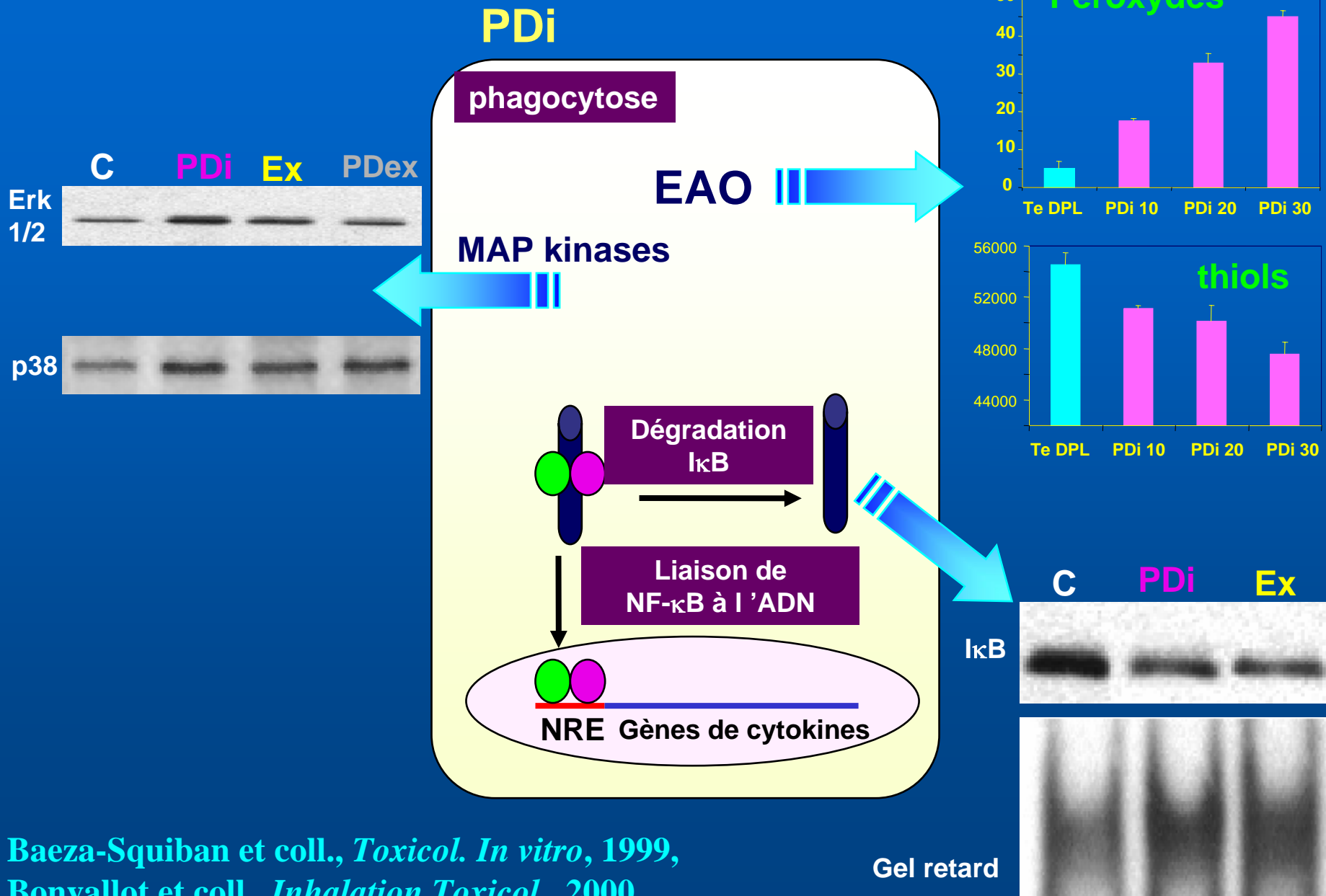
ARNm de GM-CSF

C

PDi

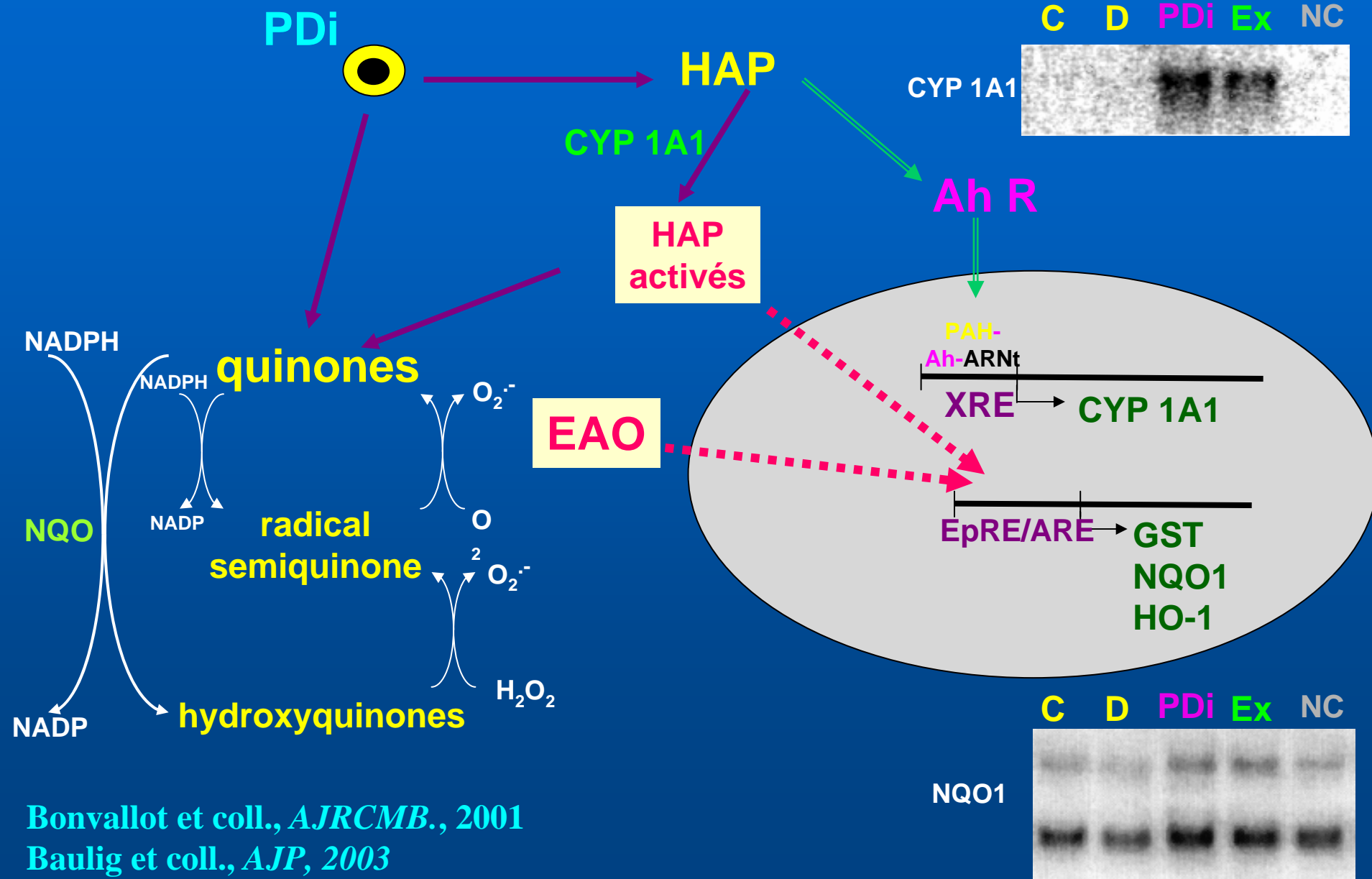


Mécanismes moléculaires de la réponse inflammatoire



Baeza-Squiban et coll., *Toxicol. In vitro*, 1999,
 Bonvallot et coll., *Inhalation Toxicol.*, 2000

Devenir des composés organiques

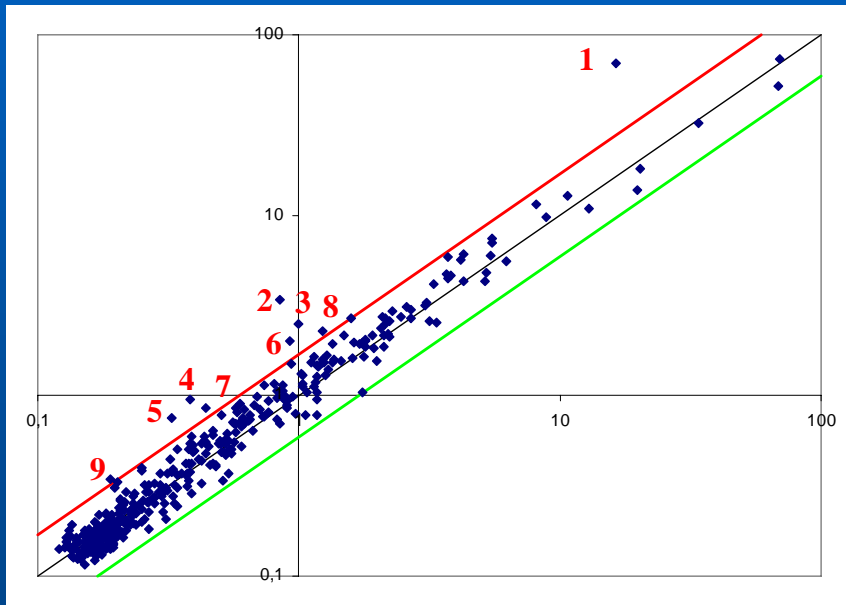


Bonvallot et coll., *AJRCMB.*, 2001

Baulig et coll., *AJP*, 2003

Macro-Array

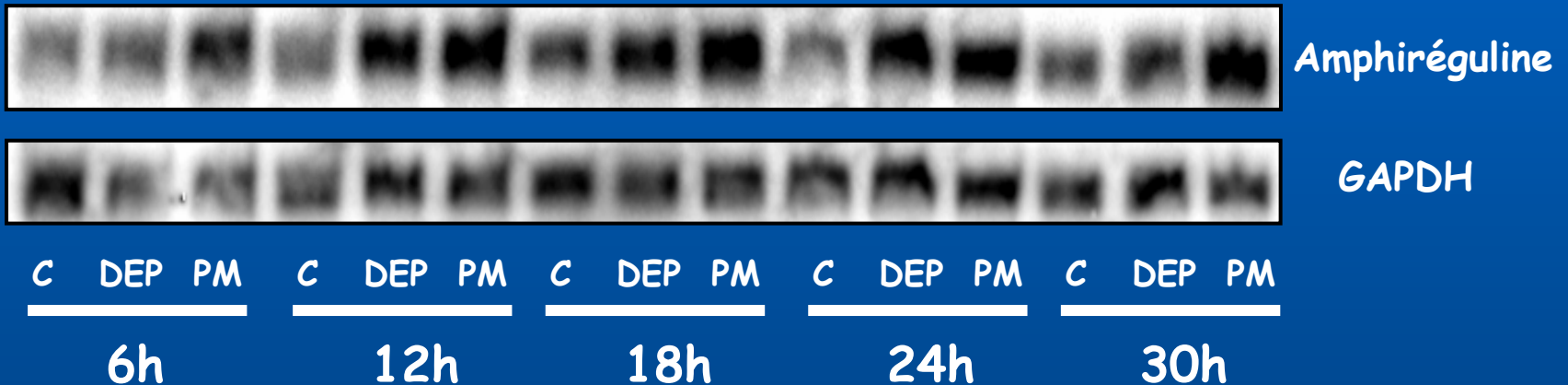
PM-VW



Expression			Genes
I_{VH02}/I_{DPL}	DPL	PM-VW	
4,28	16.4	70.1	Amphiréguline
3,97	0.8	3.4	IL-1 α
2,54	1.0	2.5	Intégrine A2
2,49	0.4	0.9	G-CSF
2,30	0.3	0.7	IL-1 β
2,19	0.9	2.0	Bétacelluline
1,94	0.4	0.8	VCAM-1
1,86	1.2	2.3	TNF-R1
1,84	0.2	0.3	IL-8
0,59	1.7	1.0	TIMP-2

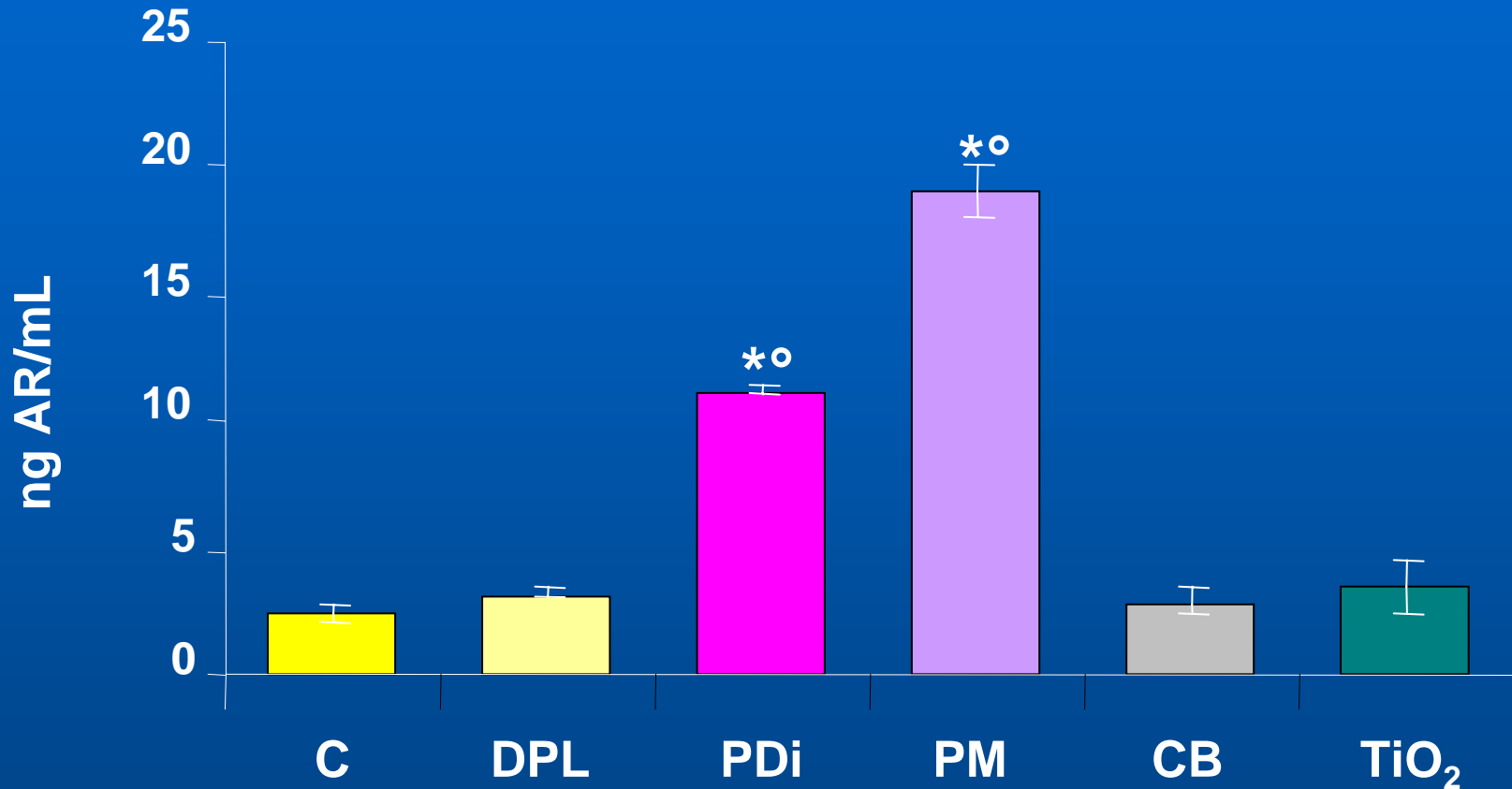
Expression de l'amphiréguline induite par les particules

Northern-blot



Blanchet et coll., *AJRCMB.*, 2004

Sécrétion d'amphiréguline

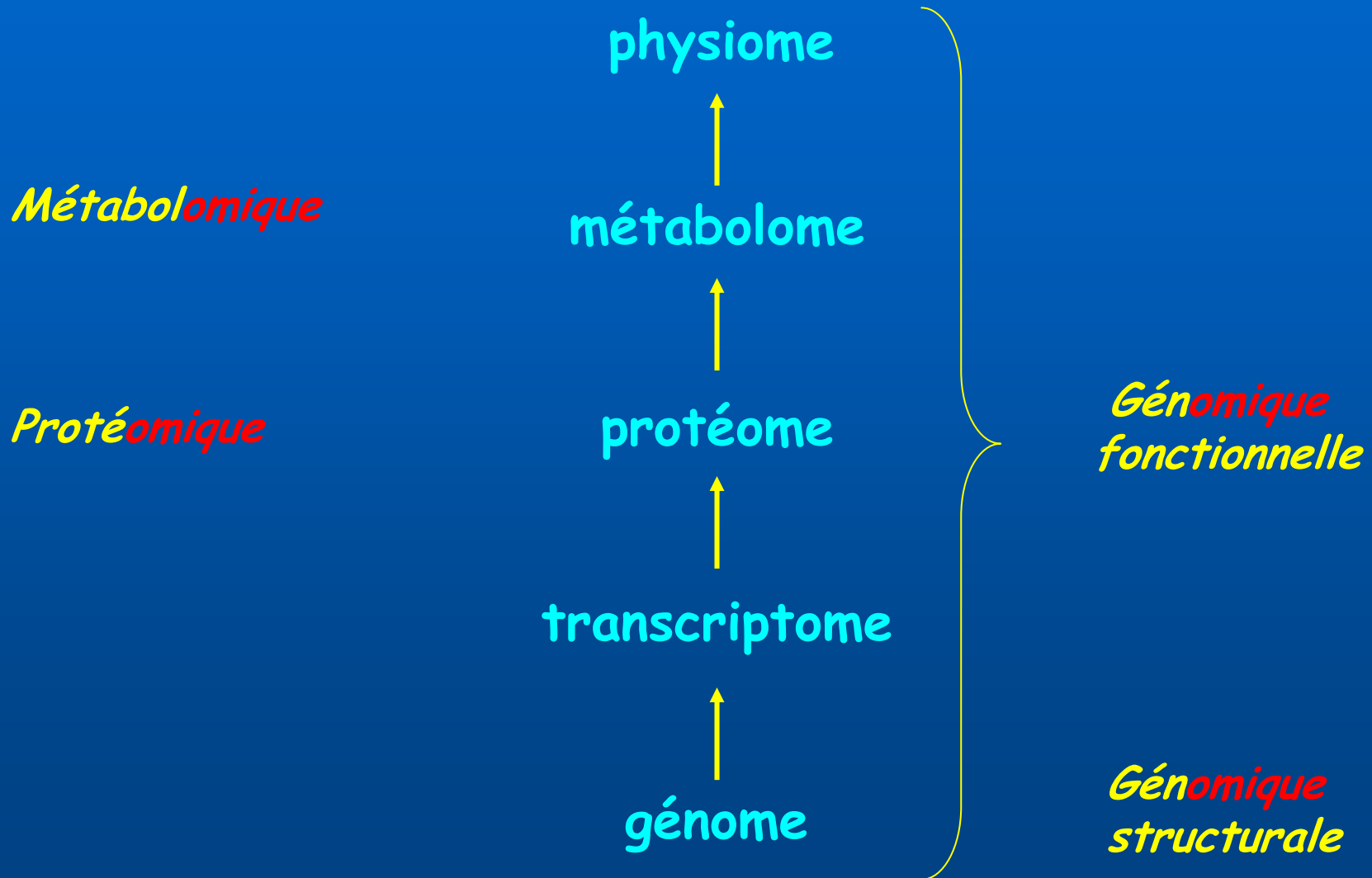


* : différent du contrôle

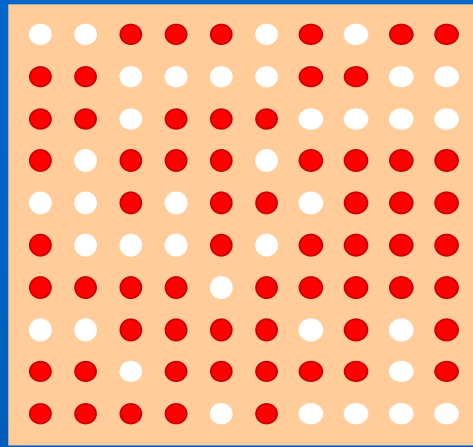
° : différent des autres traitements

Blanchet et coll., *AJRCMB.*, 2004

Intérêt des « omiques » dans l'étude des faibles doses (Barouki et coll ERS 2006)



Témoin



Avec dioxine

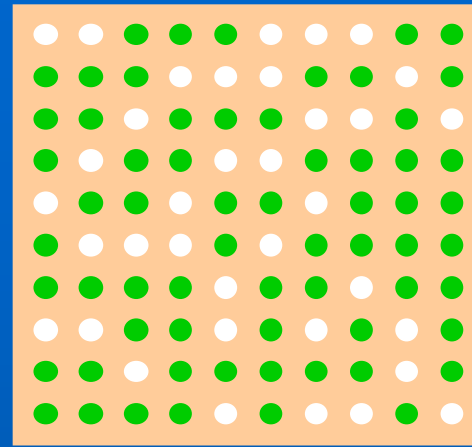
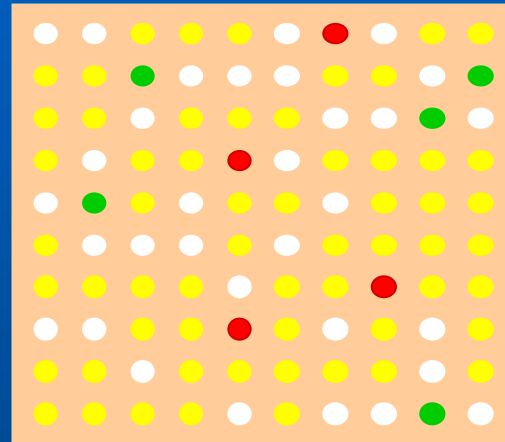
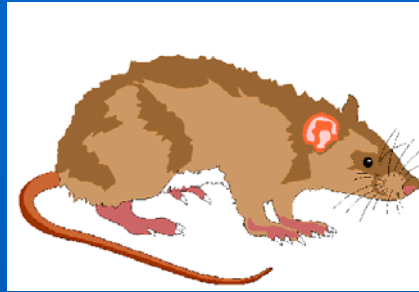


Image
combinée

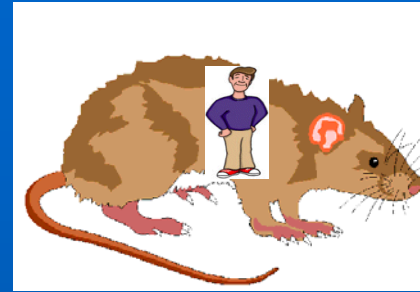


- Gènes induits par la dioxine
- Gènes réprimés par la dioxine
- Gènes dont l'expression n'est pas modifiée

Utilisation d'animaux transgéniques en toxicologie



Souris sauvage (AhR^{d/d})
AhR murin



Souris humanisée (hAhR)
AhR humain

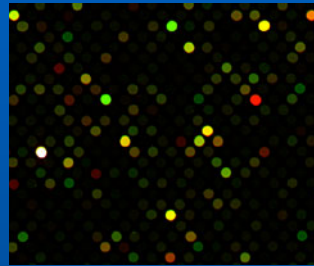
Toxicité (dioxine)	++	+/-
induction (dioxine)	++	+
induction (3-MC)	++	++

Moriguchi et coll PNAS 2003



Toxicologie
Traditionnelle

Toxico-cinétique
Toxicodynamie
Histo-pathologie



OMIQUES
Haut Débit



Biologie
structurale
Méthodes in silico

Réseaux; Bases de données; Modèles Mathématiques

Description de systèmes en toxicologie
Barouki et coll, ERS 2006

Vers une toxicologie mécanistique et prédictive

- Recherche de « signatures » d'exposition et d'effet: nouveaux marqueurs
- Recherche de nouveaux tests plus sensibles chez l'animal ou sur cultures cellulaires(lignées transfectées, souris transgéniques)
- Développement de modèles mathématiques permettant d'intégrer l'ensemble des données