

Effets sur le développement foetal de l'exposition humaine à des xénobiotiques

Les effets neurotoxiques des expositions environnementales *in utero*

Période : décembre 2008 à mars 2009

Larissa TAKSER

Université de Sherbrooke - Département Obstétrique Gynécologie – Sherbrooke - Canada

Mots clés : **Développement Cérébral, Effets Neurotoxiques, Exposition Prénatale**

Les expositions prénatales suscitent de plus en plus d'intérêt scientifique, compte tenu de la mise en évidence des xénobiotiques dans les tissus foetaux humains. A la lumière des nouvelles connaissances sur la « programmation foetale » des maladies adultes, on s'interroge sur les effets des expositions chimiques environnementales à long terme. Cette note couvre les effets neurotoxiques des substances environnementales anthropogènes chez les animaux en développement. Durant la période couverte par la note, aucune étude épidémiologique n'a été publiée.

Exposition au potassium perfluorooctanesulfonate (K⁺PFOS) durant la gestation et la lactation chez le rat : neurotoxicité développementale

Le perfluorooctanesulfonate (PFOS)¹ est un contaminant persistant de l'environnement à l'échelle mondiale détecté dans les tissus humains, y compris dans le sang du cordon. L'étude présentée (Butenhoff *et al.*, 2009) a été financée par la compagnie 3M, productrice de produits polyfluorés. L'objectif est de déterminer les effets neurotoxiques du K⁺PFOS sur la descendance des femelles exposées. Les auteurs ont testé 3 doses de K⁺PFOS (0,1; 0,3 et 1,0 mg/kg de poids corporel) administrées quotidiennement par voie orale à partir du jour 0 de gestation jusqu'au jour 20 postnatal. Chaque groupe d'exposition comprenait 25 rates gestantes (lignée Crl : CD). L'évaluation morphologique et fonctionnelle des animaux comprenait un nombre important de paramètres (ex: nombre de sites d'implantation, durée de gestation, maturation sexuelle des rejetons, analyses des hormones thyroïdiennes, etc.) et suivait les recommandations de l'EPA (U.S. Environmental Protection Agency). L'évaluation spécifique du développement neurocomportemental incluait les tests suivants : réaction au signal acoustique (acoustic startle response), activité locomotrice, test de la mémoire et de l'apprentissage. L'analyse statistique est adéquate pour ce type d'étude. Seule une hyperactivité motrice transitoire au jour 17 postnatal chez les mâles rejetons exposés à 1,0 mg/kg a été observée. Les autres paramètres ne semblent pas être liés à l'exposition au K⁺PFOS. Les concentrations sanguines de PFOS chez ces animaux sont d'environ 6 000 à 27 000

fois supérieures à celles rapportées pour la population. Les auteurs concluent que 0,3 mg/kg est la dose de référence à laquelle aucun effet toxique n'est attendu chez le rat.

Commentaire

L'étude est de bonne qualité en termes de nombre d'animaux utilisés, de puissance statistique, de design, d'analyse statistique et de nombre des mesures d'effet. Par ailleurs, l'administration chronique du PFOS est proche du mode d'exposition de la population générale. Les doses utilisées sont toutefois supérieures aux doses reçues quotidiennement par la population. Pour s'assurer de l'innocuité des faibles doses, il serait utile d'avoir un groupe d'exposition à dose correspondante au moins à la limite supérieure des concentrations sanguines de la population. Les résultats sont assez probants sur l'innocuité du PFOS pour l'animal en développement. Toutefois, la possibilité d'un conflit d'intérêts des auteurs ne doit pas être ignorée.

Altération d'expression génique des récepteurs de glutamate et des facteurs d'exocytose dans le cerveau des rats en développement par un polychlorobiphényl hydroxylé

Les polychlorobiphényls (PCB) sont les produits organiques persistants les plus étudiés au monde. Curieusement, l'étude des mécanismes de leur toxicité continue malgré leur interdiction depuis les années 1970 et la diminution significative de l'imprégnation de la population générale dans les pays développés. La toxicité des PCB ne fait aucun doute aujourd'hui. L'article de Takahashi *et al.* (2009) a été sélectionné pour illustrer l'application de la nouvelle technologie génomique, « microarray », qui permet l'étude des effets toxiques d'une substance. Cette technologie permet d'étudier simultanément l'expression de la quasi totalité des gènes. Les auteurs ont utilisé une dose (1,0 mg/kg du poids corporel) de PCB 106 hydroxylé, le métabolite principal du PCB 106². Les auteurs n'ont pas justifié le choix du PCB 106 par rapport aux autres PCB. Les rates gestantes ont été exposées quotidiennement par voie sous-cutanée entre le jour 7 de gestation et le jour 1 postnatal. Seuls les cerveaux des

nouveau-nés mâles ont été analysés pour étudier les gènes. Les résultats démontrent les changements importants des gènes codant pour les récepteurs des hormones thyroïdiennes et pour tous les neurotransmetteurs principaux, principalement le glutamate, mais aussi le GABA, l'acétylcholine, la sérotonine, la dopamine et l'adrénaline. Plusieurs gènes impliqués dans la libération du glutamate à l'extérieur des neurones (processus d'exocytose³) ont vu significativement leur expression modifiée.

Commentaire

Bien que la qualité de cette étude soit discutable du point de vue du design (une seule dose utilisée, la dose étant très forte par rapport à l'exposition actuelle de la population, utilisation des mâles seulement, choix du PCB qui n'est pas le plus présent dans notre environnement), elle mérite une attention particulière. Elle démontre que l'utilisation d'une technologie moderne, dite « microarray », qui permet de scanner rapidement la totalité des gènes, peut s'avérer utile pour l'exploration des mécanismes de toxicité. L'expression des gènes impliqués dans le développement cérébral a été modifiée à une dose inférieure à celles qui provoquent les signes de toxicité évidente. Il s'agit donc d'une méthode sensible pour détecter des effets subtils. Grâce à l'application de cette nouvelle technologie, les auteurs évoquent des mécanismes de toxicité inexplorés jusqu'à présent, qui n'ont jamais été soupçonnés en plus que 50 ans de recherche sur la toxicité des PCB. Si les technologies de type « -omique » (génomique, protéomique, métabolomique, etc.) avaient été mises au point à l'époque, la recherche des mécanismes de toxicité des PCB aurait été plus ciblée et structurée. L'avantage des nouvelles technologies devrait être prise en compte quant à la stratégie et à l'organisation de la recherche sur les substances en émergence. Pour les nouvelles substances dont la toxicité est inconnue, les technologies de ce type devraient être appliquées dès le début de l'exploration des effets toxiques. De plus, l'expression génique peut refléter des changements de l'ADN potentiellement transmis entre les générations (effet « épigénétique »). Par conséquent, une substance qui change le mode d'expression des gènes de façon significative pourrait affecter les générations futures. La séquence logique de la recherche serait, dans ce cas là, de vérifier la génération suivante pour s'assurer qu'elle n'est pas affectée. En ce sens, l'application des technologies génomiques pourrait accélérer l'évaluation des nouvelles substances.

Effets d'une exposition au chlorpyrifos lors du développement sur les neuropeptides hypothalamiques chez la souris

Le chlorpyrifos, largement utilisé en agriculture, fait partie de la famille des pesticides organophosphorés dont le mécanisme d'action est l'inhibition de l'enzyme acétylcholinestérase (AChE), responsable de la dégradation du neurotransmetteur Acétylcholine. Des études ont démontré que le chlorpyrifos pouvait agir par d'autres mécanismes que la dégradation, même à doses inférieures à celles qui inhibent l'AChE et, par conséquent perturber le comportement social des animaux exposés. **Tait et al. (2009)** ont mis en place une étude expérimentale cherchant à évaluer l'effet du chlorpyrifos en exposant des souris *in utero* (jours 15 à 18 de gestation) et/ou pendant la lactation (jours postnataux 11 à 14) durant les jours critiques de développement des zones cérébrales ciblées par l'étude. Comme mesures d'effet, les auteurs proposent d'analyser 3 hormones cérébrales, à l'âge adulte : l'oxytocine et la vasopressine, qui sont des hormones provenant de l'hypothalamus et la prolactine, produite par l'hypophyse. Ces hormones cérébrales sont impliquées, entre autres, dans le développement du comportement social et parental, la mémoire et l'apprentissage, le contrôle de l'agressivité. Les résultats montrent que l'exposition au chlorpyrifos affecte les taux d'oxytocine et de vasopressine de façon plus marquée chez les mâles. De plus, l'exposition *in utero* semble avoir plus d'impact sur la sécrétion de ces hormones que l'exposition postnatale, bien qu'un effet additif soit observé chez les animaux exposés pendant les deux périodes. Les auteurs concluent que les effets neuro-hormonaux du chlorpyrifos doivent être pris en considération et que ce pesticide devrait être classé comme perturbateur endocrinien.

Commentaire

L'étude est de bonne qualité. Toutefois, le choix des doses utilisées *in utero* (3 et 6 mg/kg) n'est pas discuté par les auteurs. L'exposition *in utero* affectant plus les hormones étudiées que l'exposition postnatale, on peut se demander si la dose d'exposition *in utero* supérieure à la NOAEL⁴ n'a pas contribué à cet effet. Contrairement à la littérature pré-existante, cette étude s'intéresse aux hormones de l'axe hypothalamo-hypophysaire (AHH) comme cibles de toxicité. L'axe AHH joue un rôle crucial dans la régulation de la plupart des processus métaboliques de l'organisme. Il est également impliqué dans le développement des fonctions cérébrales responsables du comportement à l'âge adulte et au cours de la reproduction, mais reste très peu exploré en toxicologie environnementale. Finalement, cette étude démontre que l'AHH est sensible aux expositions *in utero* et doit être plus activement exploré comme cible de toxicité dans les modèles expérimentaux et en épidémiologie.

Conclusion générale

La revue des trois publications reflète les tendances modernes de la toxicologie environnementale. Une des tendances est l'utilisation des nouvelles technologies de type « omique » (génomique, protéomique, etc.) comme dans l'étude de **Takahashi et al. (2009)**. Cette approche offre une nouvelle voie pour l'exploration rapide des effets toxiques et serait particulièrement intéressante à appliquer sur les substances en émergence.

La deuxième tendance concerne l'exploration, comme mesures d'effet, des cibles physiologiques clés presque ignorées jusqu'à présent. L'article de **Tait et al. (2009)** montre que pour une substance dont le mécanisme de toxicité est bien connu, l'exploration d'un autre effet toxique, comme le fonctionnement de l'axe hypothalamo-hypophysaire peut être utile dans un modèle d'exposition aux faibles doses et d'impacts associés sur le développement. La troisième tendance est de s'approcher des conditions d'exposition réelle de la population et d'améliorer les protocoles d'études. **Butenhoff et al. (2009)** et **Takahashi et al. (2009)** ont administré leurs agents d'exposition de façon chronique, bien que les doses utilisées soient trop élevées pour refléter celles de la population humaine. La question du protocole des études sur le développement a été soulevée à plusieurs reprises (**Malnick et al., 2002**). L'article de **Butenhoff et al. (2009)** est un exemple d'étude répondant aux critères de qualité méthodologique pour ce type d'études.

En conclusion, les articles de **Tait et al. (2009)** et de **Takahashi et al. (2009)** démontrent que l'exposition *in utero* aux polluants environnementaux affecte le développement cérébral de façon plus significative que les expositions postnatales. L'utilisation des nouvelles technologies, de type « -omique » et l'exploration des nouvelles cibles de toxicité, telles que l'ADN et l'ARN, permettent d'acquérir plus de connaissances que les méthodes traditionnelles fondées sur les hypothèses mécanistiques formulées a priori.

Mots clés utilisés pour la recherche bibliographique

Brain, Prenatal Exposure.

Publications analysées

Butenhoff JL, Ehresman DJ, Chang SC et al. Gestational and lactational exposure to potassium perfluorooctanesulfonate (K+PFOS) in rats: developmental neurotoxicity. *Reprod. Toxicol.* 2009; 27(3-4):319-30.

Tait S, Ricceri L, Venerosi A et al. Long-term effects on hypothalamic neuropeptides after developmental exposure to chlorpyrifos in mice. *Environ. Health Perspect.* 2009; 117(1):112-6.

Takahashi M, Negishi T, Imamura M et al. Alterations in gene expression of glutamate receptors and exocytosis-related factors by a hydroxylated-polychlorinated biphenyl in the developing rat brain. *Toxicology.* 2009; 257(1-2):17-24.

Publication de référence

Melnick R, Lucier G, Wolfe M et al. Summary of the National Toxicology Program's report of the endocrine disruptors low-dose peer review. *Environ. Health Perspect.* 2002; 110(4):427-31.

Publications non sélectionnées

Lazrshvili IL, Shukakidze AA, Chkhartishvili NN et al. Morphological changes and manganese content in the brains of rat pups subjected to subchronic poisoning with manganese chloride. *Neurosci. Behav. Physiol.* 2009; 39(1):7-12.

L'article n'a pas été retenu compte tenu du nombre limité de mesures d'effet.

Zimmer KE, Gutleb AC, Lyche JL et al. Altered stress-induced cortisol levels in goats exposed to polychlorinated biphenyls (PCB 126 and PCB 153) during fetal and postnatal development. *J. Toxicol. Environ. Health A.* 2009; 72(3-4):164-72.

Article très intéressant et pertinent, mais rapporte plus les effets endocriniens que neurotoxiques.

Lexique

¹ PFOS: Perfluorooctanesulfonate.

² PCB 106: 2,3,3',4,5-Pentachlorobiphenyl.

³ exocytose: Processus au cours duquel les substances contenues dans une cellule sont enveloppées par la membrane de cette cellule, pour être ensuite rejetées vers l'extérieur.

⁴ NOAEL (pour No Observed Adverse Effect Level): Terme utilisé en toxicologie notamment pour désigner la dose de substance administrée n'entraînant pas d'effet nocif (dose sans effet nocif observé).