

# Impact de composés perfluorés sur le développement de stéatoses hépatiques

Laila MSELLI-LAKHAL | laila.lakhal@inra.fr

Inra - UMR 1331 - Toulouse

Mots clés : Composés perfluorés, perturbation métabolique, stéatose

L'obésité et les maladies métaboliques associées sont dues à des dysfonctionnements du système endocrinien et potentiellement sensibles aux produits chimiques de type perturbateurs endocriniens (Thayer et al, Environ Health Persp, 2012). Parmi elles, les stéatoses hépatiques non alcooliques ou NAFLD (*Non-alcoholic fatty liver disease*) représentent un ensemble de désordres hépatiques allant de la simple accumulation de graisse dans le foie, à une inflammation en présence ou non de fibrose dite stéatohépatite non alcoolique ou NASH (*Non Alcoholic Steato-Hepatitis*). Les causes premières de ces pathologies sont un déséquilibre lié à une alimentation riche et une vie sédentaire. Mais de nombreuses données scientifiques, à la fois épidémiologiques et expérimentales, montrent un rôle des substances chimiques, en particulier celles du type perturbateur endocrinien\* dans le développement de stéatose ou leur évolution vers des formes plus sévères. Le terme TAFLD (Toxicant-associated fatty liver disease) a été récemment créé pour décrire les maladies hépatiques non alcooliques dues à l'exposition à des polluants environnementaux (1). Parmi ces polluants on retrouve les composés perfluorés qui sont utilisés depuis plus de 50 ans dans une grande variété de produits domestiques et industriels. Les deux articles sélectionnés dans cette note montrent un effet stéatogène de composés perfluorés comme le PFOA, le PFNA, le PFHxS ou encore le PFOS. La première étude utilise la souris comme modèle et la deuxième le poisson zèbre.

## Stéatose hépatique induite par les acides perfluoroalkyliques : effets sur les gènes contrôlant l'homéostasie lipidique

Das KP. et al. (2017). Perfluoroalkyl acids-induced liver steatosis: effects on genes controlling lipid homeostasis. *Toxicology*, vol.(378): p.37-52.

### Résumé

Des études réalisées chez le rongeur ont montré que les composés perfluorés sont de puissants modificateurs du métabolisme lipidique et provoquent des stéatoses hépatiques. Cependant les mécanismes en jeu restent à élucider. Certaines études suggèrent qu'ils interfèrent avec la  $\beta$ -oxydation mitochondriale des acides gras, d'autres qu'ils activent le récepteur PPAR $\alpha$  qui joue un rôle important dans la régulation du métabolisme lipidique hépatique. L'objectif de cette étude est d'évaluer différents composés perfluorés comme l'acide perfluorooctanoïque (PFOA), l'acide perfluorononanoïque (PFNA) ou le Perfluorohexane sulfonate (PFHxS) par rapport à leur capacité à induire des stéatoses chez la souris. Pour étudier l'implication du récepteur nucléaire PPAR $\alpha$  dans ces effets, ces composés ont été administrés par gavage pendant sept jours de souris de type sauvage (WT) ou invalidées pour ce récepteur nucléaire. Les effets obtenus ont été comparés à ceux du WY-14643 (WY), agoniste pharmacologique du récepteur PPAR $\alpha$ . Les résultats obtenus montrent que le PFOA, le PFNA et le PFHxS provoquent des augmentations du poids du foie et de la taille des cellules hépatiques ainsi qu'une diminution de la teneur en ADN par mg de foie par un mécanisme indépendant de PPAR $\alpha$ . Ces composés

induisent également une stéatose hépatique attestée par des colorations à l'« Oil Red O » de coupes de foie et le dosage de triglycérides. Les souris PARR $\alpha$ -/- présentent une charge en lipides hépatiques plus importante que les sauvages mais le traitement par les composés perfluorés entraîne une augmentation de cette charge lipidique. Des essais visant à évaluer l'effet de composés perfluorés sur la  $\beta$ -oxydation mitochondriale des acides gras n'ont permis de mettre en évidence aucun effet d'inhibition. Par l'analyse de résultats de puces à ADN les auteurs de cette étude montrent que le traitement par des composés perfluorés entraîne une induction d'expression des gènes de catabolisme lipidique, ainsi que ceux impliqués dans la synthèse d'acides gras et de triglycérides, chez les souris WT et, dans une moindre mesure, dans les souris PPAR $\alpha$ -/-. Les auteurs font l'hypothèse d'une rupture de l'équilibre synthèse/dégradation des lipides par les composés perfluorés pour expliquer l'accumulation de lipides qu'ils induisent au niveau hépatique.

### Commentaire

Cet article est particulièrement intéressant du fait d'une étude complète visant à mieux comprendre les mécanismes par lesquels les composés perfluorés entraînent des stéatoses hépatiques. Les auteurs ont étudié plusieurs composés le PFOA, le PFNA et le PFHxS. Ils montrent que ces trois composés, administrés par gavage quotidien de 10 mg/kg pendant 7 jours, provoquent tous les mêmes effets au niveau hépatique : augmentation du poids du foie et de son contenu en lipide dont les triglycérides. D'autres articles avaient précédemment montré un effet de composés

perfluorés sur le métabolisme lipidique hépatique. Cependant ces études ont porté principalement sur le PFOA en association ou pas avec des régimes gras (2). L'autre intérêt de cette étude est d'apporter des données à la fois sur l'accumulation de lipides au niveau hépatique et sur l'expression des gènes associés. L'analyse d'expression de gènes montre une induction simultanée de la synthèse des acides gras par le processus de lipogénèse et de leur dégradation par la  $\beta$ -oxydation des acides gras. L'utilisation de souris invalidées pour le récepteur nucléaire PPAR $\alpha$  (PPAR $\alpha$ -/-) permet d'apporter des données mécanistiques. L'étude montre que la plupart des effets observés sont indépendants du récepteur nucléaire PPAR $\alpha$  puisqu'ils sont retrouvés chez les souris PPAR $\alpha$ -/-. La stéatose induite par les composés perfluorés résultent donc probablement de l'activation par ces composés de plusieurs facteurs de transcription comme CAR, PXR et LXR (3). Il faut noter que cette étude mélange différents modèles ce qui complique la formulation de conclusions générales : souris SV129, rats Sprague-Dawley et cellules humaines HepG2.

### L'exposition chronique à l'acide perfluorooctanesulfonique perturbe le métabolisme lipidique du poisson zèbre.

Cui Y. et al. (2017). Chronic perfluorooctanesulfonic acid exposure disrupts lipid metabolism in zebrafish. *Hum Exp Toxicol*, vol. (36): p.207-217.

#### Résumé

Dans cette étude les auteurs ont voulu évaluer les effets d'exposition à l'acide perfluorooctanesulfonique (PFOS) sur le métabolisme lipidique, plus particulièrement chez les organismes aquatiques. Pour cela ils ont évalué les conséquences d'une exposition chronique à une faible dose de PFOS sur des poissons zèbres mâles et femelles et sur leur descendance F1. Les résultats montrent une plus grande sensibilité des mâles par rapport aux femelles. Chez ces derniers le traitement avec 0,5  $\mu$ M de PFOS provoque des changements au niveau hépatique se traduisant par une stéatose, des anomalies structurales au niveau des mitochondries et du réticulum endoplasmique. Au niveau intestinal ces mâles présentent également des changements structuraux importants. Par ailleurs les taux plasmatiques de triglycérides et de cholestérol sont diminués. Chez la descendance F1 d'animaux exposés à 0,5 $\mu$ M de PFOS, des analyses par QPCR sur les gènes impliqués dans le métabolisme lipidique ont été réalisés. Ils montrent une induction d'expression de gènes impliqués dans la signalisation de l'insuline comme *insr* (récepteur de l'insuline), d'hormone digestives comme *lepa* (leptine  $\alpha$ ), de neuropeptides comme *kiss1* (kisspeptins), ou encore du stress oxydant comme *xhd* (xanthine déshydrogénases). Ils ont également mis en évidence une diminution d'expression de gènes codant pour la synthèse des triglycérides comme *dgat1b* (diacylglycérol O-acyltransférase), de facteurs de transcription comme *hb9* (motoneurone / pancréas homeobox) et de protéine entrant dans la composition du HDL-cholestérol comme *Apoa1* (apolipoprotéine AI). L'ensemble des résultats montre qu'une exposition

chronique au PFOS perturbe le métabolisme lipidique chez les poissons zèbres F0 et leur descendance F1.

#### Commentaire

Dans ce deuxième article les effets des composés perfluorés et plus particulièrement du PFOS sur le métabolisme lipidique sont évalués chez le poisson zèbre. Le modèle d'étude utilisé est le poisson zèbre qui constitue un organisme modèle d'étude des maladies humaines du fait de son génome qui est très proche de celui de l'humain. Ce modèle permet de réaliser une exposition longue de 180 jours à des doses faibles (ici 0, 0,02, 0,1 et 0,5 $\mu$ M), mimant celles retrouvées dans l'environnement. L'avantage de cette étude est d'intégrer à la fois les mâles et les femelles, les parents et leurs descendants. Les effets observés sont généralement significatifs pour une exposition de 0,5  $\mu$ M. Cette étude montre que l'exposition au PFOS conduit, comme pour ses autres congénères, au développement d'une stéatose hépatique et à d'autres désorganisations tissulaires aussi bien au niveau hépatique que gastro-intestinal. Elle souligne une plus grande sensibilité des mâles à ces effets. Les auteurs expliquent cette différence par une probable différence dans la métabolisation et le stockage du composé par les deux genres. Les effets sur la descendance F1 ne sont étudiés qu'à travers l'expression de gènes impliqués dans le métabolisme lipidique, qui n'est appuyée par aucune donnée histologique hépatique. Certaines régulations géniques sont mêmes parfois contre-intuitives par rapport aux maladies métaboliques (sans réelle discussion des auteurs). Néanmoins, ces modulations d'expression de gènes suggèrent un effet transgénérationnel du PFOS. Elles mettent également en lumière le rôle potentiel du stress oxydant dans les effets du polluant. Par ailleurs, après une exposition à 0,5 $\mu$ M des parents, une différence de sexe ratio (plus de femelles), des difformités et une survie réduite sont observées chez la descendance. Ces résultats sont cohérents avec une autre étude parue dans la même période (4) montrant qu'une exposition d'embryons de poissons zèbre au PFOS entraîne une accumulation de lipides dans le foie. Dans cette dernière étude des analyses transcriptomiques plus poussées montrent une dérégulation de gènes impliqués dans de nombreuses voies métaboliques hépatiques confirmant un effet mécanisme d'action complexe des composés perfluorés dans l'induction de pathologies hépatiques (4). Ces articles montrent également l'intérêt du modèle de poissons zèbres dans les études de toxicologie.

**CONCLUSION GÉNÉRALE**

Les deux études présentées dans cette note portent sur l'effet stéatogène des composés perfluorés dans deux modèles animaux : souris et poisson zèbres. Ces composés sont des polluants organiques persistants retrouvés dans tous les compartiments de l'environnement (air, eau, sol...) et dans la chaîne alimentaire. Leur toxicité pose question, certains d'entre eux étant notamment suspectés d'avoir des effets de perturbateurs endocriniens. Ils présentent une similarité importante avec les acides gras et on les suspecte d'induire une perturbation endocrinienne en activant le récepteur nucléaire PPAR $\alpha$ . Les études présentées dans cette note illustrent cet effet à travers la démonstration d'une interférence de plusieurs congénères de cette famille avec le métabolisme lipidique hépatique. L'exposition à ces composés pourrait donc contribuer au développement de pathologies hépatiques de type stéatoses ou stéatohépatites dont l'incidence a doublé au cours des 20 dernières années et pour lesquelles il n'existe aucun traitement à l'heure actuelle autre que le contrôle des facteurs de risque. Les articles présentés dans cette note montrent que les mécanismes en jeu dans l'induction de ces pathologies hépatiques sont complexes et ne se résument pas à l'interaction avec le récepteur nucléaire PPAR $\alpha$ . Le deuxième article montre que ces pathologies se manifestent même à de faibles doses d'une exposition chronique de six mois et suggère une plus grande sensibilité des mâles par rapport aux femelles, ainsi que des effets intergénérationnels.

**GENERAL CONCLUSION**

*The two studies presented in this note deal with the steatogenic effect of perfluorinated compounds in two animal models: the mice and the zebrafish. These compounds are found in all compartments of the environment (Air, water, soil...) and in the food chain; their toxicity raises questions, some of them being suspected of having endocrine disrupter effects. They have a high similarity with the fatty acids and are suspected to induce endocrine disruption by activating PPAR $\alpha$  nuclear receptor. The studies presented in this note illustrate this effect through the demonstration of interference of several congeners of this family with hepatic lipid metabolism. This interference may contribute to liver diseases such as steatosis or steatohepatitis, the incidence of which has doubled over the last 20 years and for which there is no treatment at present other than control of risk factors. The articles presented in this note show that the mechanisms involved in the induction of these hepatic pathologies are complex and are not limited to the interaction of PPAR $\alpha$  nuclear receptor. The second article shows that these pathologies manifest themselves even at 6 months chronic exposure to low doses and suggest a greater sensitivity of males compared to females, as well as intergenerational effects.*

**Lexique**

**Apoa1** : Apolipoprotéine AI, composante majeure du HDL dans le plasma, joue un rôle important dans le transport du cholestérol des tissus périphériques vers le foie.

**CAR** : Constitutive Androstane Receptor, récepteur aux xénobiotique régulant la fonction de détoxification et également impliqué dans le métabolisme énergétique.

**Dgat1b** : Diacylglycérol O-acyltransférase-1b, enzyme impliqué dans la synthèse des triglycérides.

**Hb9** : Motoneurone / pancréas homeobox, facteur de transcription jouant un rôle dans la différenciation des motoneurones et le développement du pancréas.

**INSR** : Récepteur à l'insuline, impliqué dans la voie de signalisation à l'insuline.

**Kiss1** : Kisspeptine, neuropeptide se liant au récepteur couplé aux protéines G GPR54.

**Lepa** : leptine  $\alpha$ , hormone digestive contrôlant la sensation de satiété.

**LXR** : Liver X Receptor, récepteur nucléaire régulant le métabolisme lipidique.

**PPAR $\alpha$**  : Peroxysome Proliferator-Activated Receptor alpha, récepteur nucléaire régulant le métabolisme lipidique.

**PXR** : Pregnane X Receptor, récepteur aux xénobiotique régulant la fonction de détoxification et également impliqué dans le métabolisme énergétique.

**Xdh** : Xanthine déshydrogénases, complexe enzymatique existant sous des formes interconvertibles. La forme oxydase génère des espèces réactives d'oxygène, qui joue

un rôle important dans la pathogenèse de la stéatose hépatique et du diabète de type I et II.

### Publications de référence

**1 Wahlang B, Beier JL, Clair HB, Bellis-Jones HJ, Falkner KC, McClain CJ, Cave MC.** Toxicant-associated steatohepatitis. *Toxicol Pathol* 2013 ;41 (2):343-60.

**2 Tan X, Xie G, Sun X, Li Q, Zhong W, Qiao P, Sun X, Jia W, Zhou Z.** High fat diet feeding exaggerates perfluorooctanoic acid-induced liver-injury in mice via modulating multiple pathways. *Ploce One*, 2013, vol.8 (4)

**3 Bjork JA, Butenhoff JL, Wallace KB.** Multiplicity of nuclear receptor activation by PFOA and PFOS in primary human and rodent hepatocytes. *Toxicology* 2011, vol. 288 (1-3):p.8-17.

**4 Fai Tse WK, Li JW, Kwan Tse AC, Chan TF, Hin Ho JC, Sun Wu RS, Chu Wong CK, Lai KP.** Fatty liver disease induced by perfluorooctane sulfonate: Novel insight from transcriptome analysis. *Chemosphere* 2016 vol.159: p166-77.

### Revue de la littérature

**Li K, Gao P, Xiang P, et al.** Molecular mechanisms of PFOA-induced toxicity in animals and humans : Implication for health risks. *Environ Int.* 2017, vol.99:p ;43-54.

### Liens d'intérêts :

Les auteurs déclarent n'avoir aucun lien d'intérêt.