



Etat des lieux sur la place de l'épigénétique dans l'évaluation des dangers et des risques émergents

Olivier Delmas, colloque Adebiotech, 13–14 mars
2018

INERIS

maîtriser le risque |
pour un développement durable |

La toxicologie translationnelle

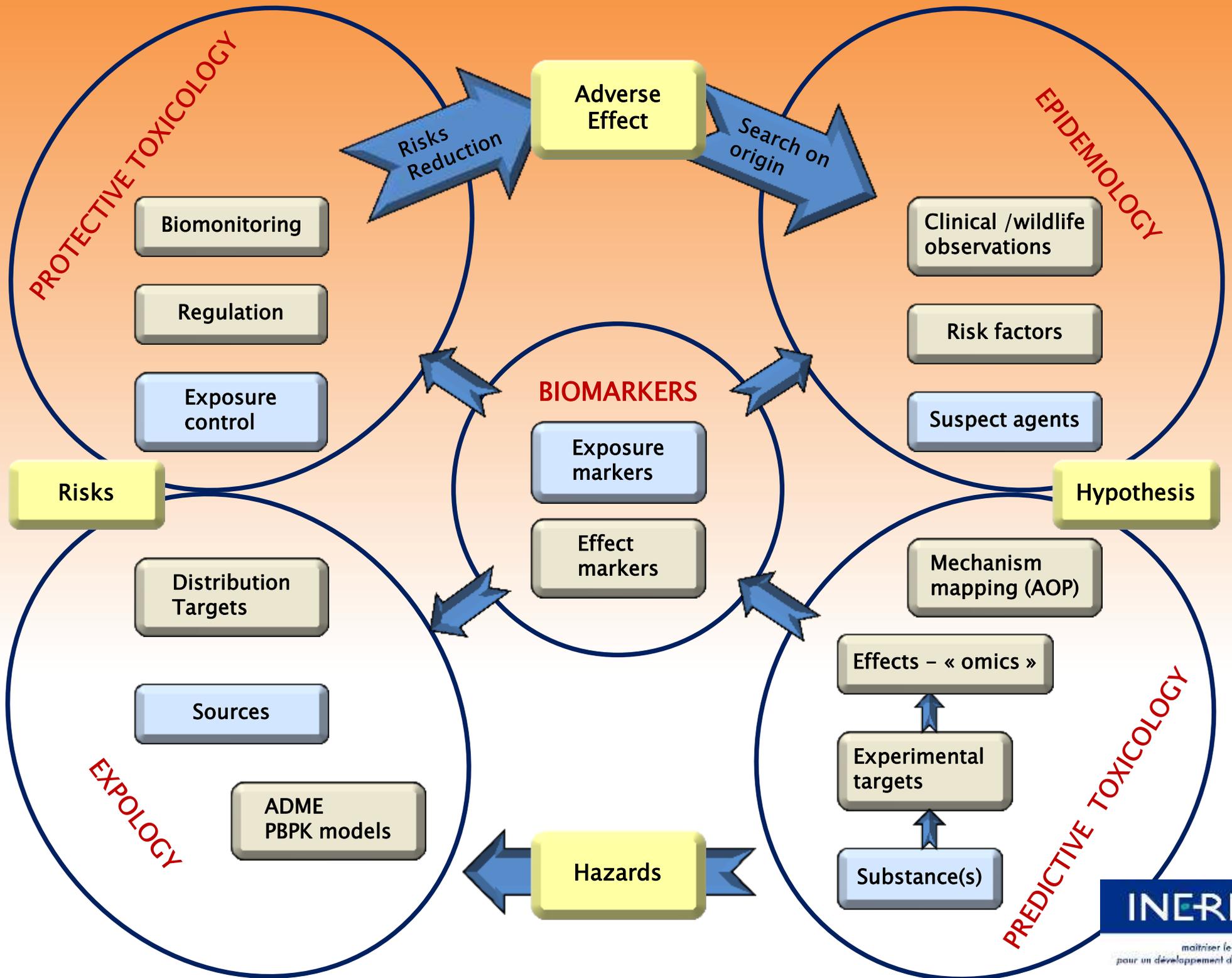
- La roue de la toxicologie translationnelle
- Les AOP, les biomarqueurs

Trois exemples de risques

- Les substances chimiques
- Les nanoparticules
- Les champs électromagnétiques

Perspectives d'utilisation de l'épigénétique par les experts du risque

- Les ateliers prospectifs
- Les attentes
- Remarques conclusives : perturbateur épigénétique ?



- Est-ce une variable mesurable ?
- Est-ce quantifiable ?
- Représente-t-il une interaction chimie-biologie ?
- Est-ce prédictif du chemin toxicologique le plus sensible ?
- Est-ce représentatif d'un AOP ?
- Est-il observé in vivo ?
- Donne-t-il des informations sur la fréquence, l'amplitude et la réversibilité d'un phénomène ?

Un biomarqueur de toxicité in vitro fournit une information (quantitative) pertinente et prédictive d'un effet adverse in vivo (par extrapolation).

Distinguer effet adverse et changement adaptatif !

Blauboer et al. Transatlantic think tank for toxicology, 2012

Qu'est-ce qu'un risque émergent ? Quels apports attendus de l'épigénétique ?

Risque ancien dont la prise de conscience est récente :

- perturbateurs endocriniens
- Effets retards ou transgénérationnels
- Effets des mélanges, imprégnation générale de la population

Risque lié à de nouvelles technologies, nouveaux produits :

- nanoparticules, champs électro-magnétiques

Plus globalement, risque dont la connaissance est insuffisante pour en assurer une bonne gestion : besoin de recherche

S'il ne peut être exclu un risque grave et irréversible (à l'environnement) :

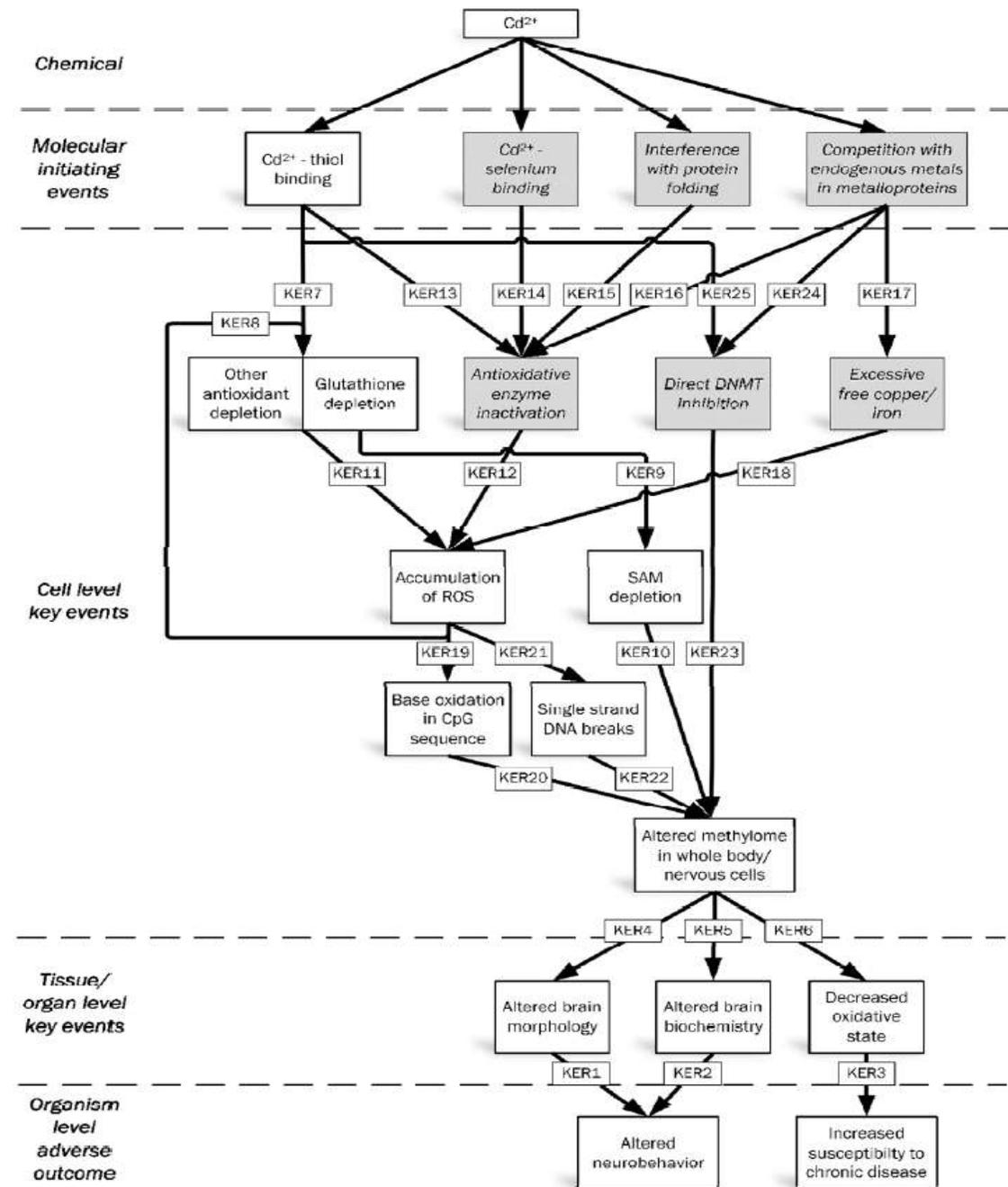
- évaluation des risques
- adoption de mesures provisoires et proportionnées

Adverse Outcome Pathway : an example with Cadmium on embryos

- ❑ Effet retard (exposition embryon, effet adulte)
- ❑ Non spécifique (Autres polluants, alcool, PCB)
- ❑ Modèle avec des incertitudes
- ❑ Différents effets épigénétiques
- ❑ Lien de causalité très probable de la méthylation de l'ADN sur les tissus, mais sans spécificité de gènes
- ❑ Manque le niveau transcriptomique / protéomique / métabolomique

D'après Ruitter et al., 2016 Programmed Effects in Neurobehavior and Oxydative Physiology in Zebrafish Embryonically exposed to cadmium :

observation and hypothesized adverse Outcome pathway framework



Mammalian endocrine genes regulated by DNA methylation

Zhang and Ho 2011

P450sc	CYP11A1
3 β -hydroxysteroid dehydrogenase	HSD3B1/2
17 α -hydroxylase	CYP17A1
17 β -hydroxylase	HSD17B3
Vitamin D synthesis	CYP27A1/B1
Androgen receptor	AR
Oestrogen receptor 1	ESR1
Oestrogen receptor 2	ESR2
Progesterone receptor	PGR
Glucocorticoid receptor	NR3C1
Mineralocorticoid receptor	NR3C2
Retinoic acid receptor α	RARA
Retinoic acid receptor β	RARB
Somatostatin	SST
Vasopressin	VAP
Melanocyte-stimulating hormone	POMC
Secretin	SCT
Insulin	INS
Leptin	LEP/OB
Oxytocin receptor	OXTR
Follicle stimulating hormone receptor	FSHR
Thyroid stimulating hormone receptor	TSHR
Insulin-like growth factor receptors	IGF1R/IGF2R

Comment construire les AOP?

Martos S. et al. (2017)

- Méthylation mono-allélique
- Prédisposition génétique
- Méthylation DNMT1 dépendante
- Identification de gènes présentant des sensibilités à la méthylation
- Gènes connus pour leur implication dans des pathologies
- Gènes candidats pour construire des modèles d'exposition à des facteurs environnementaux ou nutritionnels

- Manque de cohortes, difficultés de faire des essais randomisés contrôlés.

On peut aujourd'hui espérer utiliser l'état de méthylation de l'ADN comme biomarqueur de l'étiologie de maladies. (Argentieri et al. 2017)

Toxicité sur nématodes dans le test *in vivo* de *Caenorhabditis elegans* exposés à des nanoparticules de polystyrene probablement par transfert dans les gonades. (Zhao et al. 2017)

Resistance à la toxicité de CdTe chez la descendance de nématodes par mutation de ARNi (Liu et al, 2015)

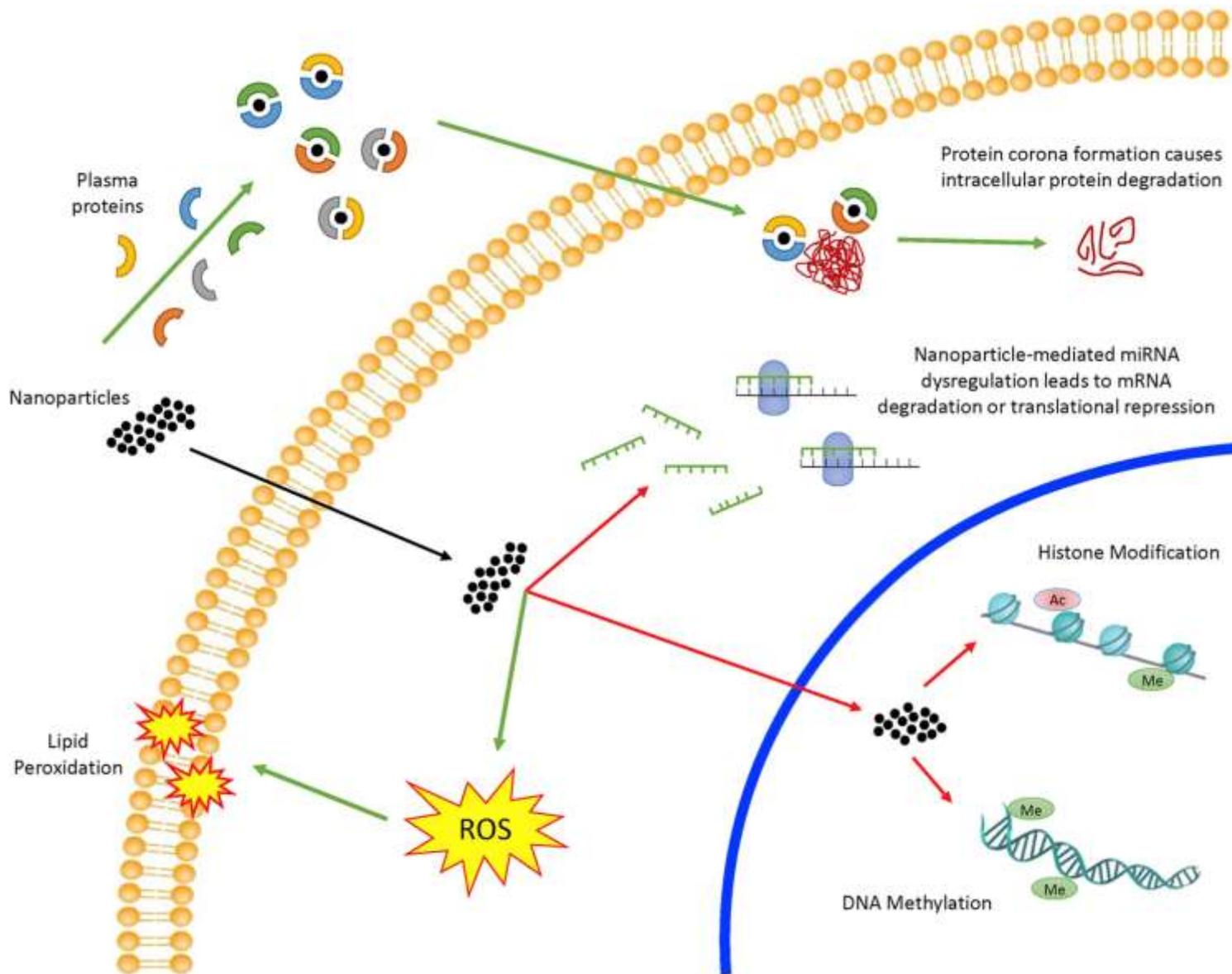
Sensibilité accrue aux nanoparticules d'Argent chez des nématodes après exposition des générations antérieures (Schultz et al. 2016)

Exposition de poules ZnO vs ZnSO₄, par l'alimentation pendant 24 semaines. Effets sur les poussins : synthèse des lipides et croissance altérées, apoptose. Expression de gènes impliqués modifiée (Hao et al. 2017)

Nanoparticules : Modulations épigénétiques dans la toxicité induite

Nano	Taille (nm)	Histone met	Histone Ace	Histone phosph.	ADN méth.	DNMT express.	miR
AsO3	86	-	+	+			
C	1 /14				+	-	#
C (tubes)	sw 1,5				+	-	
C (tubes)	mw 170				+	-	#
CuO	60				+		
Au	20 - 60	-			+/-		#
Points quantiques			-				#
SiO2	15				-	-	
Ag	25	-					#
TiO2	<100				-	-	#
ZnO	<100	+	-		-	-	#
Indium tin ox					-		

Nanoparticules : cytotoxicité et effets épigénétiques



D'après Wong BSE, Hu Q, Baeg GH, Epigenetic modulation in nanoparticle-mediated toxicity (2017)

Les modifications épigénétiques ne sont pas des marqueurs suffisamment prédictifs

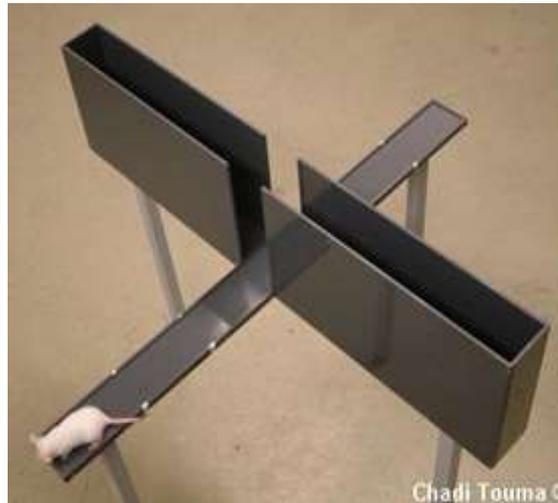
Manque de données épidémiologiques (données *in vitro* et animales)

Effets épigénétiques à des doses sub-toxiques

Pas de consensus sur les méthodes de tests toxicologiques sur les NP

Difficultés à reproduire les conditions réelles d'exposition.

Comportement altéré (activité exploratoire) des rats à l'adolescence suite à une exposition à des champs électromagnétiques (GSM 900 MHz à 1,5 et 6 W/kg) in utero. Limite réglementaire 2W/kg (Villegier AS, 2017 projet ANSES infla RF).



Relation entre exposition aux CEM durant la grossesse et troubles de l'attention et de l'hyperactivité (plus marquée chez les fillettes que les garçons) mise en évidence sur une cohorte de 1.500 mères-enfants (Li D.-K. et al. BIOEM 2016).

Dédifférenciation cellulaire provoquée par l'action conjuguée d'un champ 50Hz $B_m=1\text{mT}$ et d'un seul facteur « Yanamaka » (en l'absence de champ, 4 facteurs sont nécessaires) (Baek et al. 2014)

Augmentation de l'acétylation des histones H3K9 et prolifération et différenciation neuronales de cellules souches neurales, sous l'effet de CEM très basse fréquence (Leone et al. 2014)

Détérioration des miR-34b/c par CEM 50 Hz par affectation de leur niveau de transcription en réponse à un stress induit par un CEM 50Hz. (Benassi et al. BIOEM 2016)

Très peu d'études. Potentiel fort de l'apport de l'épigénétique du fait des effets retards, du fondement biophysique, des incertitudes

ILSI-HESI 2012 International Life Sciences Institute – Health and environmental Sciences Institute

OCDE 2012 Endocrine disruptors and the epigenome

Advancing AOPs for integrated toxicology and regulatory applications
2014

Office Parlementaire d'Evaluation des Choix Scientifique et technique
2015

EFSA. Epigénétique et évaluation des risques 2016

Un cadre conceptuel organisant les lignes directrices par niveau (mécanismes d'action et effets indésirables) et par niveau de complexité (in vitro versus in vivo).

Plus de 100 tests mais :

- Incertitudes concernant la capacité prédictive in vivo
- Effets temporels non évalués (temps de latence entre exposition et premier symptômes)

Gourmelon A. 2014, colloque PERT Adbiotech

Cadre conceptuel OCDE de tests des perturbateurs endocriniens combinés avec des tests épigénétiques (extrait)

Niveau	Tests de toxicologie	Tests épigénétiques proposés	Substances d'intérêt pour évaluer le test
1 – Données existantes ou hors tests	Read across, QSARs, <i>in silico</i>	Littérature sur méthylation, miARN, détection de PE avec activité épigénétique	
2 – Tests <i>in vitro</i> sur PE et AOP	TG 455 : activation de la transcription du R de l'estrogène	Méthylation (cytosine) Etude de la chromatine, miARN	Positifs : DES, BPA, Genistein, Tamoxifen
3 – Tests <i>in vivo</i> sur AOP	TG 440 : test uterotrophique	Corrélations entre phénotype et tests épigénétiques	
4 – Tests <i>in vivo</i> sur effets délétères	TG 415 : Test 1 génération	BPA induit méthylation, sur des loci avec altération de la transcription	
5 – Tests <i>in vivo</i> sur cycle de vie	TG 416 : Test 2 générations	Recherche d'épimutations dans la descendance	DES, lindane, BPA, nonylphenol...

- Identifier des marqueurs précoces et sensibles
- Expliquer des variations inter-individuelles
- Interprétations erronées, ou hâtives, tenant insuffisamment compte des incertitudes
- Validation des méthodes pour des effets adverses précis
- Raffiner les méthodes en expérimentation animale (meilleure prise en compte des variations inter-espèces)
- Lancer des études épidémiologique : Liens exposome – état de la population – effets adverses

Pr Gérard Lasfargue ANSES :

« Les effets épigénétiques sont d'abord des effets adaptatifs. **Il est important pour nous, en tant qu'acteurs de sécurité sanitaire, de savoir si ces effets vont se traduire aussi, à plus ou moins long terme, par des effets biologiques pertinents pour le risque sanitaire, suivis éventuellement de la survenue de pathologies. La difficulté, pour une agence d'évaluation des risques comme l'ANSES, est de parvenir à établir le lien entre ces empreintes de la perturbation environnementale au sens large et des risques sanitaires possibles ou probables, voire avérés, afin d'être en mesure de formuler des propositions permettant d'éclairer des choix de prévention ou de précaution. »**

La notion de « perturbation épigénétique » non retenue à ce jour, compte tenu des effets adaptatifs, du manque de spécificité. Ne semble pas la bonne approche.

Tirer des informations pertinentes des grands bases de données sur les « omiques » pour l'évaluation des risques et d'identifier des biomarqueurs d'exposition pertinents et utilisables dans le suivi des populations, par le biais notamment des grandes cohortes.

Combiner de l'expologie prédictive, de la toxicologie prédictive et de l'évaluation des risques dans des populations cibles.