

Epigénétique et troubles neurodéveloppementaux effet toxique du THC sur les spermatozoïdes?

Dr Raphaël Serreau

MD, PhD, HDR

Responsable filière addictologie EPSM Georges Daumezon,

Directeur de Thèse à l'Université Paris Saclay

31 mars 2023

Collège de

de

Dr

Raphaël Serreau

MD, PhD, HDR

Responsable filière addictologie EPSM Georges Daumezon,

Directeur de Thèse à l'Université Paris Saclay

31 mars 2023

I. Les substances psychoactives

- Que l'usage en soit interdit ou réglementé, elles agissent directement sur le cerveau et modifient :
 - comportement
 - humeurs
 - perceptions
 - activité mentale
- Elles peuvent entraîner:
 - une **dépendance**
 - des **conséquences néfastes** sur la vie quotidienne
 - des **effets somatiques** (sur le corps)
 - En consommer peut entraîner des risques pour la santé en fonction de la durée et de la quantité de substances psychoactives (phénomène de tolérance).

I. Les substances psychoactives

Surdose (overdose): prise d'un produit en quantité supérieure à la dose limite supportable par l'organisme et qui provoque des symptômes.

- détresse respiratoire
- convulsions
- perte de conscience
- tremblements
- tachycardie
- ...

Craving (envie à « en crever ») : envie irrépressible de consommer le produit.

Polyconsommation: consiste à associer différents substances souvent afin d'en renforcer ou modifier les effets.

- alcool + anxiolytique
- héroïne + cannabis
- cannabis + alcool...



I. Les substances psychoactives

- Cannabis, delta-9-tétrahydrocannabinol
- Nom générique de la plante dont l'espèce la plus répandue est le

Cannabis sativa (chanvre indien).

- Il se présente sous 3 formes:
 - herbe (« joint »)
 - résine (« haschisch »)
 - huile (plus concentrée en principe actif)
- Le cannabis peut aussi être ingéré (*space-cakes*) ou bu (infusions)

I. Les substances psychoactives

- Effets et conséquences d'une consommation de cannabis :
- euphorie
- bien-être
- somnolence
- diminution des capacités de mémorisation
- troubles de la concentration
- augmentation du temps de réaction
- difficulté à effectuer des tâches complètes
- troubles de la coordination motrice
- désintérêt pour les activités habituelles
- fatigue physique et intellectuelle

- favoriser l'apparition ou aggrave des troubles psychiatriques (**hallucinations**, troubles anxieux intenses, humeur dépressive...) : « ivresse cannabique »

- la prise de cannabis augmente les effets de l'alcool

I. Les substances psychoactives

- **Cannabinoïdes synthétiques** : (CP 47, CP497, C6, JWH-018, HU-210)
- Ne contiennent pas de cannabis, mais produisent des effets similaires lorsqu'ils sont fumés.
- Agonistes des récepteurs au THC (se lient aux mêmes récepteurs que le THC)
- **Se présentent sous la forme de sachet : « herbal spices », 200 fois plus addictif que le THC**



I. Les substances psychoactives

Opiacés (héroïne, morphine, codéine, méthadone, buprénorphine...)

Famille de produits obtenus à partir de l'opium, produit **sédatif** d'origine naturelle provenant de cultures de pavot.

- **L'héroïne** se présente sous forme de poudre blanche (sel acide) ou marron (sel basique). Elle peut être injectée en intraveineuse, sniffée ou fumée en « chassant le dragon ».
- **Médicaments opiacés** à visée thérapeutique (Subutex, méthadone, morphine...) : lorsque l'utilisation se fait en dehors d'une prescription médicale, les effets ne sont plus contrôlés et peuvent être dangereux.

I. Les substances psychoactives

- Cocaïne
- Cocaïne (ou chlorhydrate de cocaïne) : substance d'origine végétale, obtenue par transformation de la feuille de coca.
- Elle est consommée le plus souvent par voie nasale (sniff), parfois pulmonaire (inhalation de fumée ou de vapeurs) ou intraveineuse
- La cocaïne base (« crack » ou « free base »): est un dérivé du chlorhydrate de cocaïne, mélangé avec d'autres produits (bicarbonate, ammoniac).
 - apparition des effets plus rapide
 - durée d'action plus courte
- Petits cailloux destinés à être fumés ou injectés



I. Les substances psychoactives

- Dérivés amphétaminiques :
- Drogues de synthèse, dont le MDMA est la plus connue.
 - **MDMA** : appelée « ecstasy » sous sa forme comprimé. Hallucinogène qui peut entraîner des modifications des perceptions sensorielles.
 - **Amphétamine** (« speed »): psychostimulant plus puissant, sous forme de poudre (sniffée, voire injectée).
 - **Méthamphétamine** (« yaba », « ice » ou « crystal meth »): effets particulièrement puissants et durables.

I. Les substances psychoactives

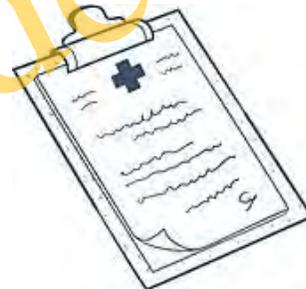
- Effets et conséquences de la consommation des dérivés amphotaminiques :

- dissipent les sensations de fatigue et de faim
- sentiment d'*euphorie*
- hyperconcentration
- *confiance en soi*
- facilitent les contacts
- hypertonie (contractions des muscles)
- hyperthermie
- sensation d'épuisement
- troubles cardiovasculaires aux conséquences pathologiques (muscles, foie, reins, cœur...)
- symptômes psychiatriques (crise d'angoisse, confusion, trouble du sommeil, humeur dépressive, désorientation temporo-spatiale, hallucinations)
 - **Décès** par décompensation cardiaque ou AVC

I. Les substances psychoactives

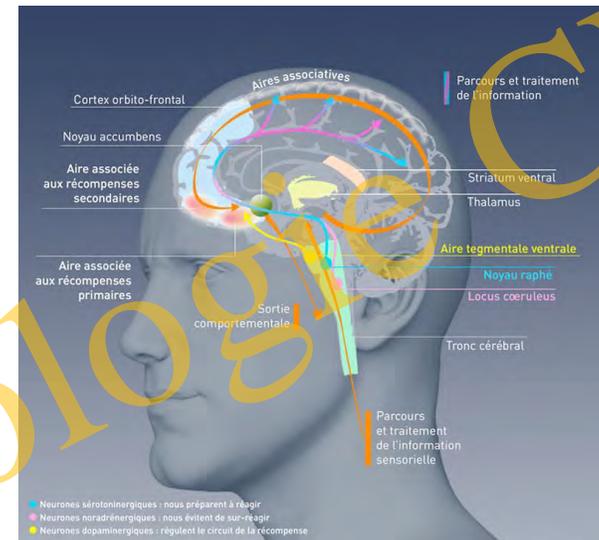
6) Médicaments psychotropes non opiacés :

- **anxiolytiques** : diminuent l'angoisse (insomnie, tension musculaire...).
- **hypnotiques** : provoquent et/ou maintiennent le sommeil, ce qui diminue la vigilance.
- **antidépresseurs** : traitements pour les dépressions
- **antipsychotiques** (neuroleptiques) : prescrits dans les psychoses
- ...



- Lorsque l'utilisation se fait en dehors d'une prescription médicale, les effets ne sont plus contrôlés et peuvent être dangereux

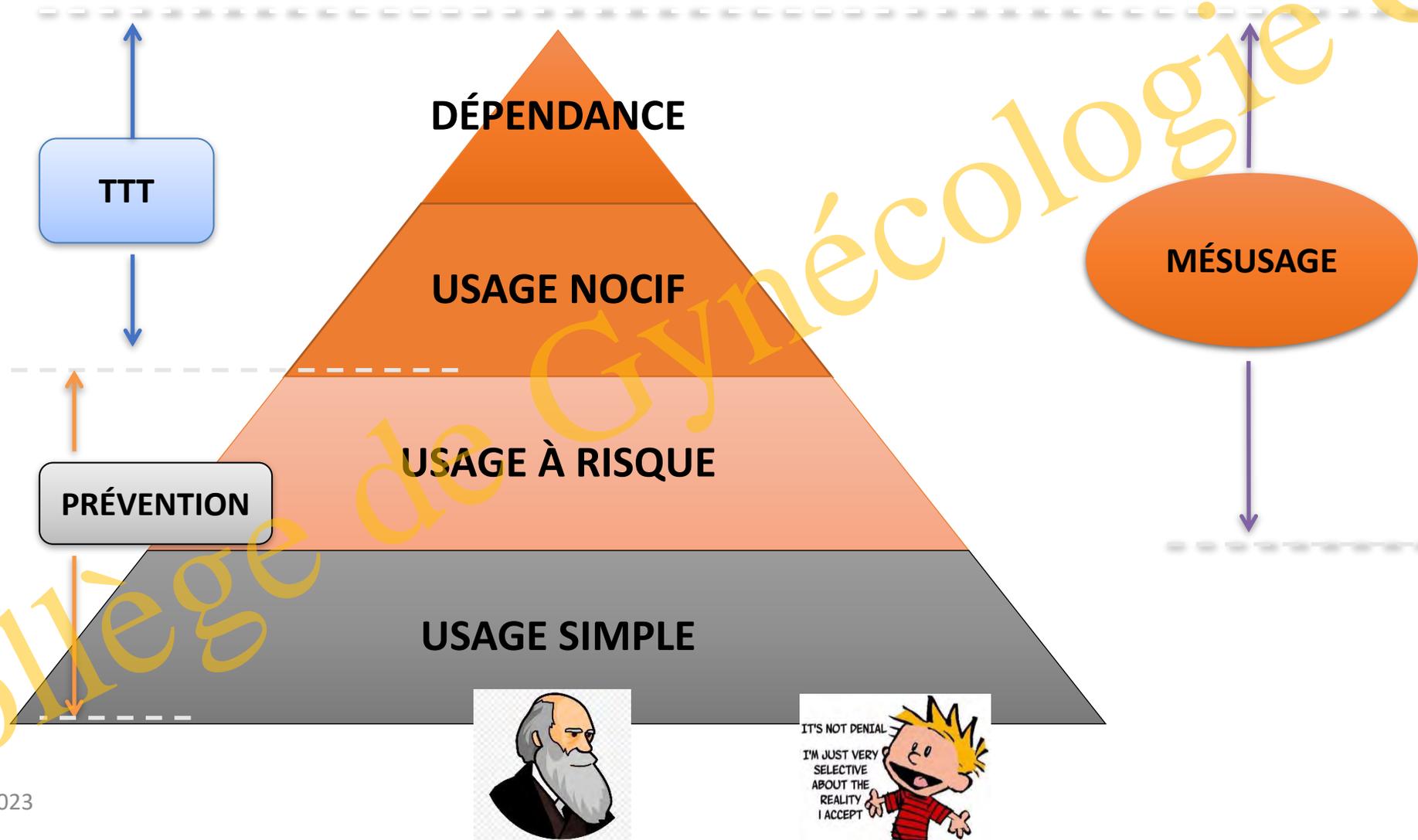
I. Les substances psychoactives



- Le circuit du plaisir et des émotions : le rôle du transporteur de la dopamine et phénomène de boucle de la récompense

II. Addiction, abus, usage ?

Comportements de consommation



III. Comment agir ?

- 2 réponses positives : Il est opportun de vous interroger sérieusement sur votre consommation de Cannabis
- 3 réponses positives : envisagez de consulter un service d'addictologie

Questionnaire CAST ou Cannabis Abuse Screening Test

Au cours des douze derniers mois :

1- Avez-vous déjà fumé du cannabis avant midi	Oui	Non
2- Avez-vous déjà fumé du cannabis quand vous étiez seul(e) ?	Oui	Non
3- Avez-vous déjà eu des problèmes de mémoire quand vous fumez du cannabis ?	Oui	Non
4- Des amis ou des membres de votre famille vous ont-ils déjà dit que vous devriez réduire votre consommation de cannabis ?	Oui	Non
5- Avez-vous déjà essayé de réduire votre consommation de cannabis sans y arriver ?	Oui	Non
6- Avez-vous déjà eu des problèmes à cause de votre consommation de cannabis (dispute, bagarre, accident, résultats à l'école ...) ?	Oui	Non

THC et troubles du spectre autistique (TSA)

Aux États-Unis (É.-U.), les taux de troubles du spectre autistique (TSA) augmentent.

En 2018, les Centers for Disease Control and Prevention (CDC) ont signalé qu'un enfant américain sur 59 est diagnostiqué avec un TSA.

Le TSA est décrit comme un trouble du développement résultant d'interactions entre les gènes et l'environnement, deux contributeurs majeurs à son étiologie multiforme.

Aucun gène n'est responsable à lui seul du TSA ; environ 1000 gènes ont été identifiés comme candidats pouvant contribuer au TSA

Contexte

- Le sperme humain pourrait être altéré par l'effet du THC sur la méthylation des histones
- Diminution de la fertilité?
- Impact sur la descendance?
- Étude contrôlée Rose Schrott *Scie Rep* 2020 sur l'effet du THC et de la nicotine dans le sperme de rat

Sperm DNA methylation altered by THC and nicotine: Vulnerability of neurodevelopmental genes with bivalent chromatin

[Rose Schrott](#),^{1,2} [Maya Rajavel](#),¹ [Kelly Acharya](#),³ [Zhiqing Huang](#),¹ [Chaitanya Acharya](#),⁴ [Andrew Hawkey](#),⁵ [Erica Pippen](#),⁵ [H. Kim Lyerly](#),⁴ [Edward D. Levin](#),⁵ and [Susan K. Murphy](#)^{1,2,6}

¹Division of Reproductive Sciences, Department of Obstetrics and Gynecology, Duke University Medical Center, Chesterfield Building, 701 W. Main Street, Suite 510, Durham, NC 27701 USA

²Integrated Toxicology and Environmental Health Program, Nicholas School of the Environment, Duke University, Durham, NC USA

³Division of Reproductive Endocrinology and Infertility, Department of Obstetrics and Gynecology, Duke University Medical Center, Durham, NC USA

⁴Division of Surgical Sciences, Department of Surgery, Center for Applied Therapeutics, Duke University Medical Center, Durham, NC USA

⁵Department of Psychiatry and Behavioral Sciences, Duke University Medical Center, Durham, NC USA

⁶Department of Pathology, Duke University Medical Center, Durham, NC USA

Susan K. Murphy,

Email: ude.ekud@yhprum.nasus.

[Sci Rep.](#) 2020; 10: 16022. Published online 2020 Sep 29. doi: [10.1038/s41598-020-72783-0](https://doi.org/10.1038/s41598-020-72783-0) PMCID: PMC7525661 PMID: [32994467](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32994467/)

Étude de Rose Schrott *Scie Rep.* 2020

Après gavage des rats, atteinte des gènes du neurodéveloppement *DLGAP2*

Ils ont étudiés l'impact du THC sur 7 gènes impliqués dans l'autisme

- *Dlg4, Shank1, Grid1, Nrnx1, Nrnx3, Syt3, et Lrrtm4*
 - Discs Large MAGUK Scaffold Protein 4 (*Dlg4*),
 - SH3 and Multiple Ankyrin Repeat Domains 1 (*Shank1*),
 - Glutamate Ionotropic Receptor Delta Type Subunit 1 (*Grid1*),
 - Neurexin 1 (*Nrnx1*),
 - Neurexin 3 (*Nrnx3*),
 - Synaptotagmin 3 (*Syt3*)
 - Leucine Rich Repeat Transmembrane Neuronal 4 (*Lrrtm4*).

10% de la méthylation de l'ADN a été concerné

Atteinte épigénétique des gènes du SNC

- 19 Gènes identifiés impliqués dans le développement neuronal et la plasticité synaptique.
 - le « développement du système nerveux » ($p = 2,50E-07$),
 - la « neurogenèse » ($p = 1,66E-07$),
 - la « modulation de la transmission synaptique chimique » ($p = 0,0088$)
 - la « maturation des synapses » ($p = 0,028$).

- [Sci Rep.](#) 2020; 10: 16022. Published online 2020 Sep 29. doi: [10.1038/s41598-020-72783-0](https://doi.org/10.1038/s41598-020-72783-0)
PMCID: PMC7525661
PMID: [32994467](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32994467/)

Tableau : RRBS data.

Chromosome	Gene name	Location	P-value	Methylation difference (%)	Methylation direction
1	<i>Shank1</i>	100342877– 100342878	0.032	– 11	Hypomethylated
1	<i>Syt3</i>	100404328– 100404329	0.023	– 11	Hypomethylated
4	<i>Lrrtm4</i>	110702815– 110702816	0.018	+ 12	Hypermethylated
6	<i>Nrxn1</i>	14349149– 14349150	0.0064	– 12	Hypomethylated
6	<i>Nrxn3</i>	112603748– 112603749	0.012	– 11	Hypomethylated
10	<i>Dlg4</i>	56638116– 56638117	0.048	– 16	Hypomethylated
16	<i>Grid1</i>	11321278– 11321279	0.020	– 41	Hypomethylated

[Sci Rep.](https://doi.org/10.1038/s41598-020-72783-0) 2020; 10: 16022. Published online 2020 Sep 29. doi: [10.1038/s41598-020-72783-0](https://doi.org/10.1038/s41598-020-72783-0) PMCID: PMC7525661 PMID: [32994467](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32994467/)

Méthode expérimentale Différences significatives entre les 7 gènes

- **Atteinte de la méthylation de l'ADN** du sperme dans les mêmes régions de ces gènes après l'injection sous-cutanée de THC
- Pyroséquençage quantitatif au bisulfite avec l'ADN du sperme de rats contrôlé (n = 8) ou rats injectés avec 4 mg/ kg THC (n = 7) **équivalent de la dose humaine**
 - Syt3, Lrrtm4, Nrnx1 et Nrnx3 étaient hypométhylés au niveau des CpG dans la région analysée pour chaque gène (p = 0,009–0,049)
 - Shank1 était **hyperméthylé** au même site CpG qui a été identifié comme hypométhylé dans les études de gavage oral (p = 0,015)
- Dlg4 et Grid1 n'ont pas montré de différences significatives de méthylation entre les groupes exposés et témoins après l'injection

- [Sci Rep.](#) 2020; 10: 16022. Published online 2020 Sep 29. doi: [10.1038/s41598-020-72783-0](https://doi.org/10.1038/s41598-020-72783-0)
PMCID: PMC7525661
PMID: [32994467](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32994467/)

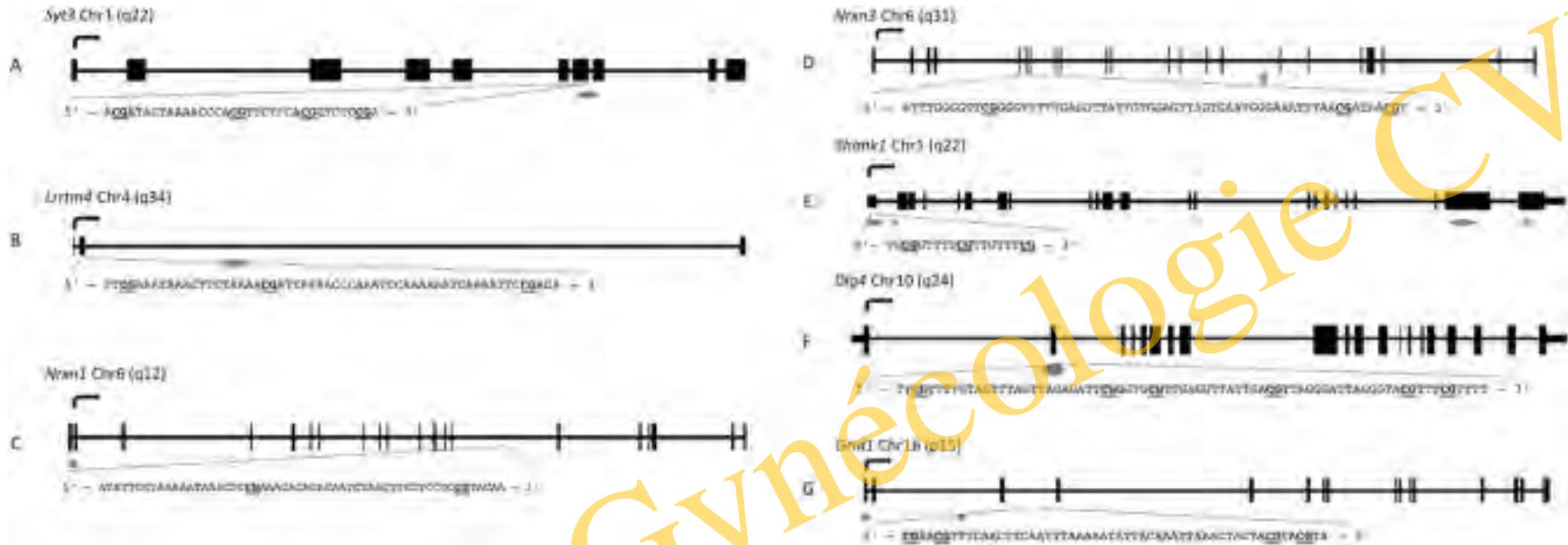


Figure 1

Schematics and sequences analyzed for the seven genes of interest. (A) *Syt3*; (B) *Lrrtm4*; (C) *Nrnx1*; (D) *Nrnx3*; (E) *Shank1*; (F) *Dlg4*; (G) *Grid1*. Genes are represented as horizontal lines with rectangles representing exons and grey ovals representing CpG islands. The sequence analyzed by bisulfite pyrosequencing is shown in the insert, with the CG sites in bold and underlined.

- [Sci Rep.](https://doi.org/10.1038/s41598-020-72783-0) 2020; 10: 16022. Published online 2020 Sep 29. doi: [10.1038/s41598-020-72783-0](https://doi.org/10.1038/s41598-020-72783-0)
PMCID: PMC7525661 PMID: [32994467](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32994467/)

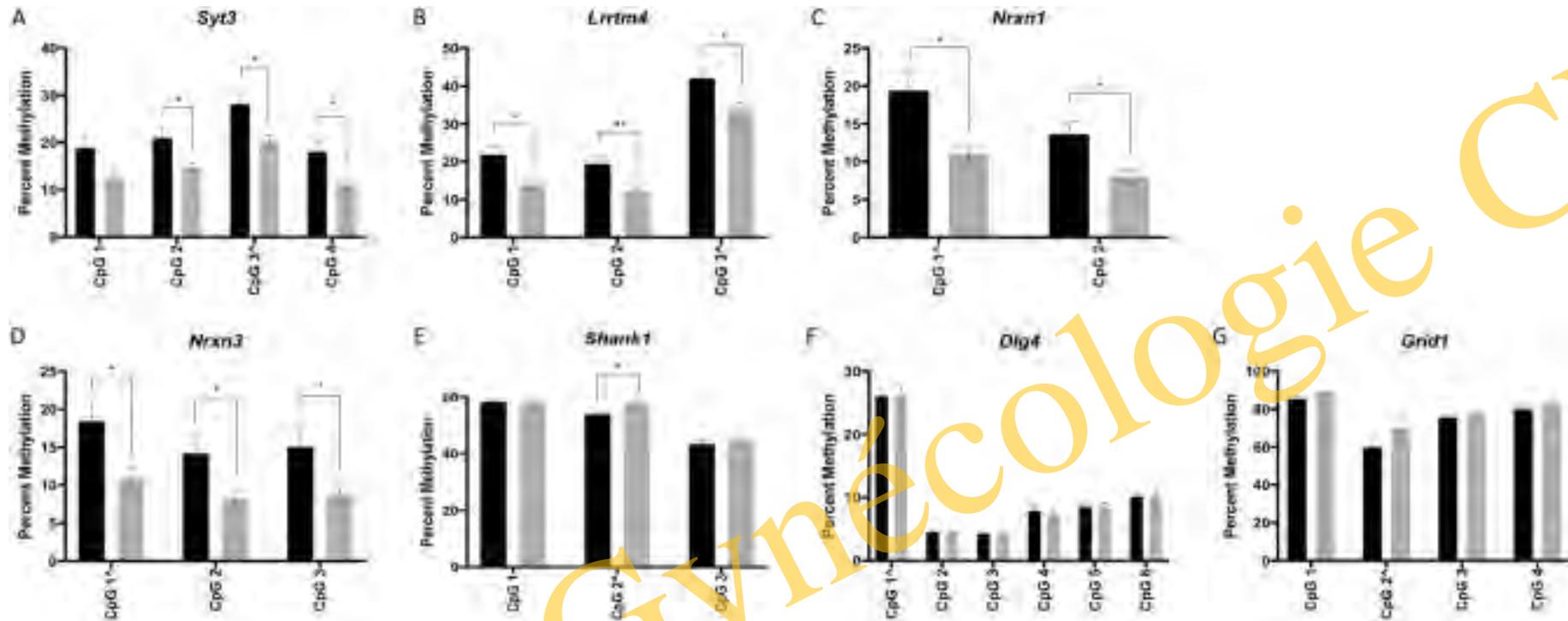


Figure 2

Bisulfite pyrosequencing of sperm DNA from THC injected rats compared to controls. Bar graphs showing bisulfite pyrosequencing results from sperm of THC exposed (gray) versus control (black) rats for (A) *Syt3*; (B) *Lrrtm4*; (C) *Nrxn1*; (D) *Nrxn3*; (E) *Shank1*; (F) *Dlg4*; and (G) *Grid1*. Error bars represent the SEM across samples. * $p < 0.05$; ** $p < 0.01$, unadjusted values. The CpG site labeled with “^” represents the site that was initially identified in the RRBS dataset.

- [Sci Rep. 2020; 10: 16022](https://doi.org/10.1038/s41598-020-72783-0). Published online 2020 Sep 29. doi: [10.1038/s41598-020-72783-0](https://doi.org/10.1038/s41598-020-72783-0)
PMCID: PMC7525661 PMID: [32994467](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32994467/)

TSA et épigénétique

Modifications de la queue des histones et de la méthylation de l'ADN au niveau des dinucléotides CG qui contribuent à l'accessibilité de la chromatine et à la liaison du facteur de transcription.

Puissante influence sur la régulation des gènes et peuvent affecter le phénotype résultant sans modifier la séquence d'ADN sous-jacente.

Les altérations de l'épigénome peuvent *fausser les modèles d'expression spatiale et temporelle* des gènes entraînant des changements phénotypiques qui peuvent contribuer à la pathologie.

Les *nutriments, le stress et les substances toxiques* sont tous potentiellement perturbateurs de la méthylation de l'ADN et peuvent entraîner la perpétuation à vie d'une méthylation altérée tout au long des divisions cellulaires ultérieures

Toxiques : tabac et THC

Des associations entre l'autisme et **l'exposition précoce** au tabagisme maternel ou grand-maternel pendant la grossesse ont été démontrées (Golding J, et al. *Sci. Rep.* 2017;**7**:46179. Chatterton Z, et al. *Epigenet. Chromatin.* 2017;**10**:4.)

D'autres ont montré des associations entre la consommation **maternelle de cannabis** pendant la **grossesse** et le retard de développement neurologique et **TSA** (Reece AS, Hulse GK. *Clin. Pediatr. Open Access.* 2019;**4**:17. Reece AS, Hulse GK. *Clin. Pediatr. Open Access.* 2019 doi: 10.35248/2572-0775.19.4.155.

Impact de la consommation paternelle

La santé du père avant la conception et les expositions qu'il subit pendant cette période peuvent également avoir un impact sur la santé et le développement de la progéniture.

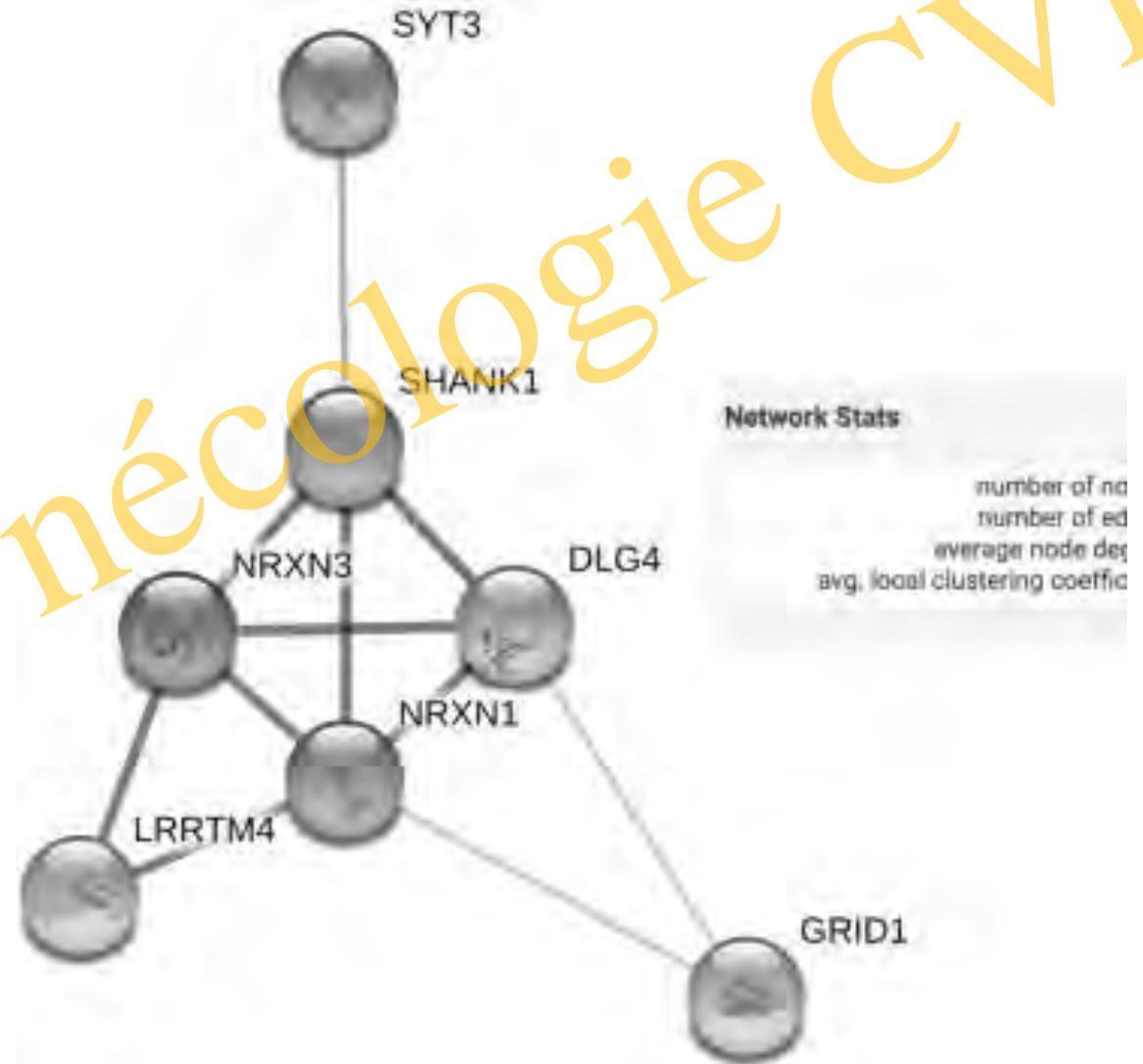
Des études montrent que l'exposition au cannabis et aux produits du tabac modifie la méthylation de l'ADN du sperme (Morkve Knudsen GT, et al. *Environ. Epigenet.* 2019;5:dvz023. Schrott R, et al. *Epigenetics.* 2019;15:161–173.)

Si oui ou non les protéines codées par ces gènes interagissent réellement les unes avec les autres.

Les 7 gènes ont été évalués dans String pour déterminer être liés ou non les uns aux autres chez l'homme, étant donné la nature conservée des gènes impliqués dans l'autisme

String des 7 gènes

- Le schéma montre que chaque protéine interagit avec au moins une autre protéine dans ce réseau.
- Le nombre de nœuds représente le nombre de protéines analysées et le nombre d'arêtes représente le nombre d'interactions présentes entre les sept nœuds.
- La valeur p significative de l'enrichissement en PPI indique que les interactions de ces protéines ne sont pas aléatoires.



Impact toxique du THC et de la nicotine

- Nous avons observé des différences significatives dans la méthylation de l'ADN du sperme suite à une exposition au THC et à la nicotine dans un groupe de gènes importants pour le développement neurologique qui se chevauchent
- Données publiées dans la littérature:
- Sealey LA, et al. Environ. Int. 2016;88:288–298.
- Kalkbrenner AE, et al Curr. Probl. Pediatr. Adolesc. Health Care. 2014;44:277–318.
- Keil KP, et al Environ. Epigenet. 2016 doi: 10.1093/eep/dvv012.

Confirmation de l'atteinte de l'ADN

- Il y avait 67 gènes en commun parmi les trois listes.
- Ces résultats appuient notre hypothèse selon laquelle la structure de la chromatine bivalente rend les gènes intrinsèquement vulnérables à la perturbation de la méthylation de l'ADN et à l'expression potentiellement altérée à la suite d'expositions environnementales.
- Fait intéressant, sur les sept gènes que nous avons examinés, **quatre** d'entre eux se trouvent à la fois dans la liste des gènes SFARI et ont également des marques de chromatine bivalentes.

RRBS Human Sperm Genes

Genes with Bivalent Chromatin

1438

538

4546

67

99

226

521

SFARI Autism Candidate Genes

Comparison	P Value	Odds Ratio (OR)
SFARI & Bivalent	P = 1.9E-09	OR = 1.4
Bivalent & RRBS	P = 2.0E-04	OR = 1.2
RRBS & SFARI	P = 7.8E-15	OR = 2.1

Conclusions :
effet toxique de
l'association
THC + nicotine
après une expo
paternelle

- une altération de la méthylation du **candidat autiste DLGAP2** et de nos découvertes d'effets sur les gènes impliqués dans le TAS
- Ces mêmes gènes vulnérables au THC étaient également sensibles à l'exposition à **la nicotine**. sperme de rats + 2 mg/kg de nicotine
- Fait intéressant, la direction du changement de méthylation était opposée entre le THC injecté et la nicotine à Syt3, Lrrtm4 et Nr3x1. Dlg4 et Grid1 étaient significativement hypométhylés dans le sperme de rat **exposé à la fois à la nicotine et au THC** par voie orale, alors qu'ils n'étaient pas significativement modifiés avec le THC injecté.

Points clés

- Schrott Colin et al ont publié que la consommation de cannabis est associée à des altérations de la méthylation dans un grand nombre de gènes importants pour le développement précoce
- La chromatine bivalente augmente la vulnérabilité épigénétique des gènes importants pour le développement neurologique
- La méthylation de l'ADN dans un sous-ensemble de locus à équilibre bivalent est aberrante dans des échantillons de cerveau post-mortem d'individus autistes
- Cette corrélation suggère que ces marques épigénétiques présentes dans l'embryon précoce peuvent être transmises à partir de la lignée germinale paternelle, soutenant une voie possible d'hérédité épigénétique intergénérationnelle

Δ^9 Tétra-hydro-cannabinol
(T-H-C) cannabis et
grossesse : risque
épigénétique en anté-
conceptionnel
Quel est le niveau
d'impact toxique du
cannabis sur l'ADN ?

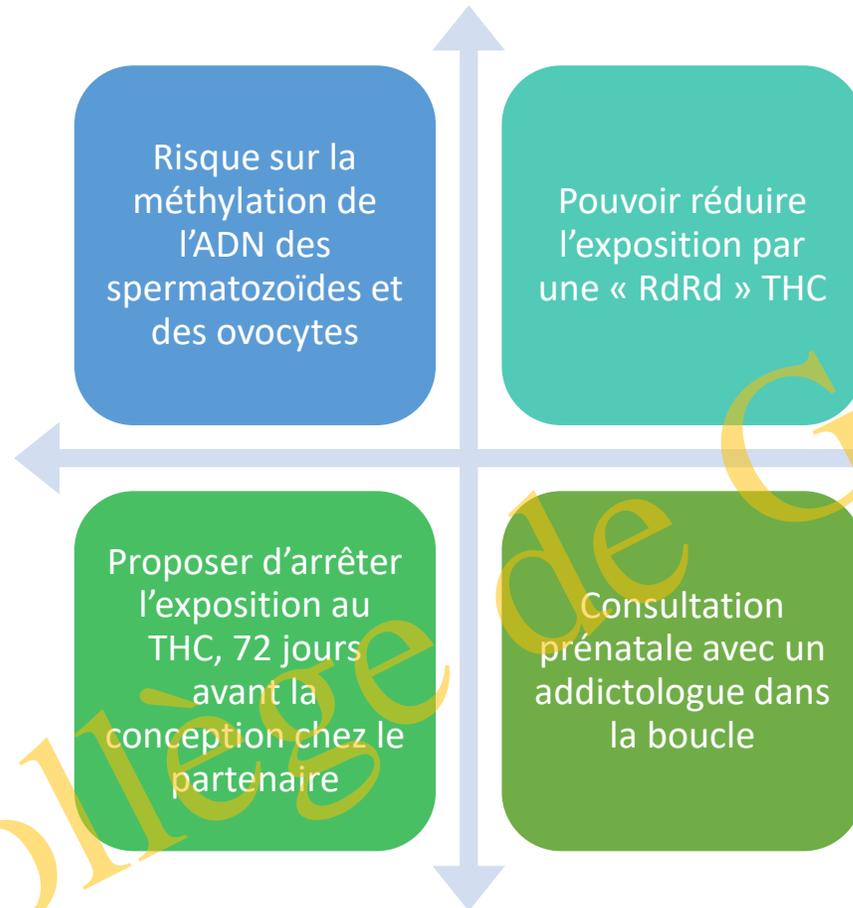
Données expérimentales positive

*Il y aurait des corrélations significatives entre
la présence de THC
et le défaut de méthylation pour 177 gènes,
dans le sperme humain et de rat (Murphy et
al Epigenetics 2018)*

Données expérimentales retrouvées dans l'ADN
au niveau des ovocytes

- Études pharmacocinétiques chez la femme enceinte
- Passage du Delta 9 – tétrahydrocannabinol (THC):
 - Immunitaire : Effets sur le système immunitaire du fœtus via les récepteurs endocannabinoïdes CB1 et CB2 (Dong et al Cell Moll Life Sci 2019)
- — Passage de la barrière placentaire
- Affinité pour les lipides
- Se fixe sur le cerveau fœtal (5 à 6 semaines d'aménorrhées)
 - Effets sur le système endocannabinoïde fœtal (Paul S et al, Jama Psychiatry 2021)
 - Étude longitudinale sur 11875 enfants exposés pendant la grossesse au THC
- Effet propre du monoxyde de carbone
- $\frac{1}{2}$ vie du THC : 57 heures chez la maman (Hale T et al, Medications during pregnancy and breastfeeding 2012)
- $\frac{1}{2}$ vie du THC : chez le fœtus?
- Passage du THC dans le lait maternel
- Étude de Denver 2013-2016 sur le passage mère enfant
- Passage des cannabis de synthèse?

Conséquences de l'exposition au THC



Drogues Info Services: ne pas rester seul !

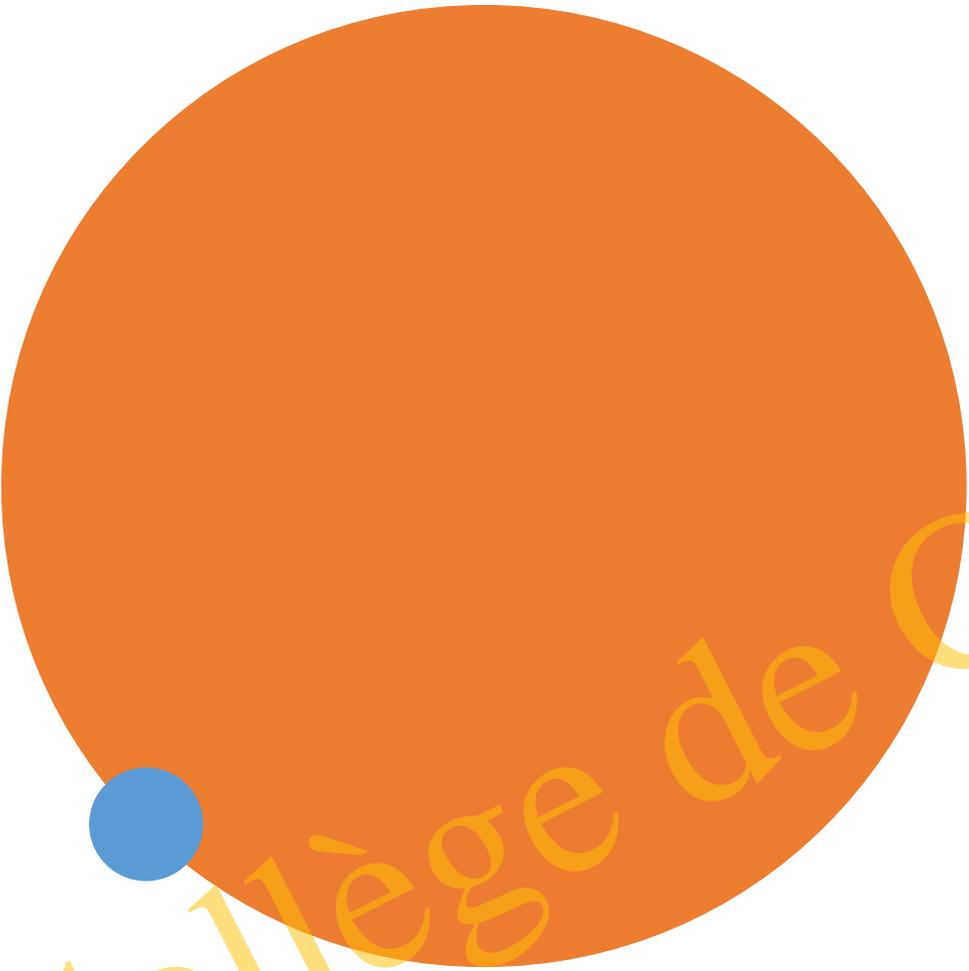
Numéro de téléphone, anonyme et gratuit de 8h/2h : Tél 0800 23 13 13

8 conseils pour arrêter le cannabis : <https://www.drogues-info-service.fr/Actualites/Arret-du-cannabis-8-conseils-pour-vous-aider>

Par Chat : Notre service de chat individuel (en direct avec l'un de nos écoutants) est ouvert de 14h à minuit du lundi au vendredi et de 14h à 20h le samedi et le dimanche.

Répondants formés et à l'écoute de toute question sur les drogues et en particulier sur la sexualité (chemsex)

Les consultations jeunes consommateurs (CJC): alcool, cannabis, cocaïne, ecstasy, jeux vidéo, tabac..., au nombre de 400 en France



Principales références bibliographiques :

- Sarah E. Paul et al; *Associations Between Prenatal Cannabis Exposure and Childhood Outcomes. Results From the ABCD Study* JAMA Psychiatry. 2021;78:64-76
- Kimberlei A Richardson et al; *Prenatal cannabis exposure - The "first hit" to the endocannabinoid system.* Neurotoxicol Teratol.2016;58:5-14
- Dong et Al; *Cannabis exposure during pregnancy and its impact on immune function.* Cell Moll Life Sci 2019;76:729-43
- Ad.n de Salas-Quiroga et al.; *prenatal exposure to cannabinoids evokes long-lasting functional alterations by targeting CB receptors on developing cortical neurons.* PNAS 2015; 112:13693-8
- Susan K. Murphy et al. *Cannabinoid exposure and altered DNA methylation in rat and human sperm* Epigenetics 2018;13:1208-21

Merci pour votre attention !