

15^{èmes} Rencontres CGCVL
Joué-les-Tours, 5 octobre 2012



Perturbateurs endocriniens et immunité intestinale: influence de l'exposition périnatale

Eric HOUDEAU

Département Alimentation Humaine

Directeur de recherche

Neuro-Gastroentérologie & Nutrition, UMR 1331 Toxalim, Toulouse

eric.houdeau@toulouse.inra.fr



Alimentation Humaine
&
Santé Animale

INRA



Stockage
Transformation
Mélange
Conditionnement
Importation
Distribution
Préparation culinaire



Consommateurs

Résidus:
- Médicaments
- Pesticides
- Polluants
- Toxines

Résidus:
- Additifs
- Migration / emballage
- Composés néoformés

En amont

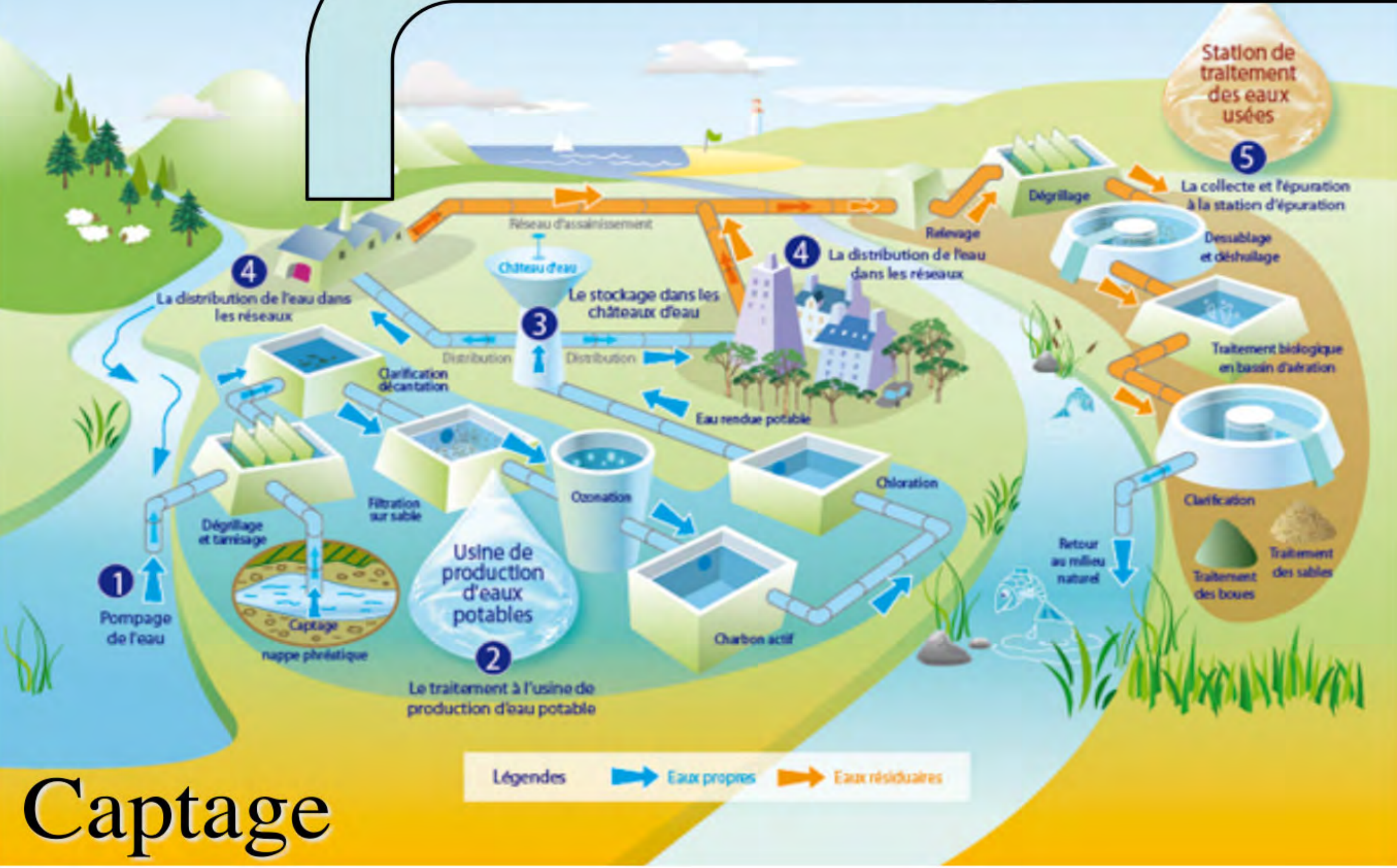
En aval

Collège de Gynécologie

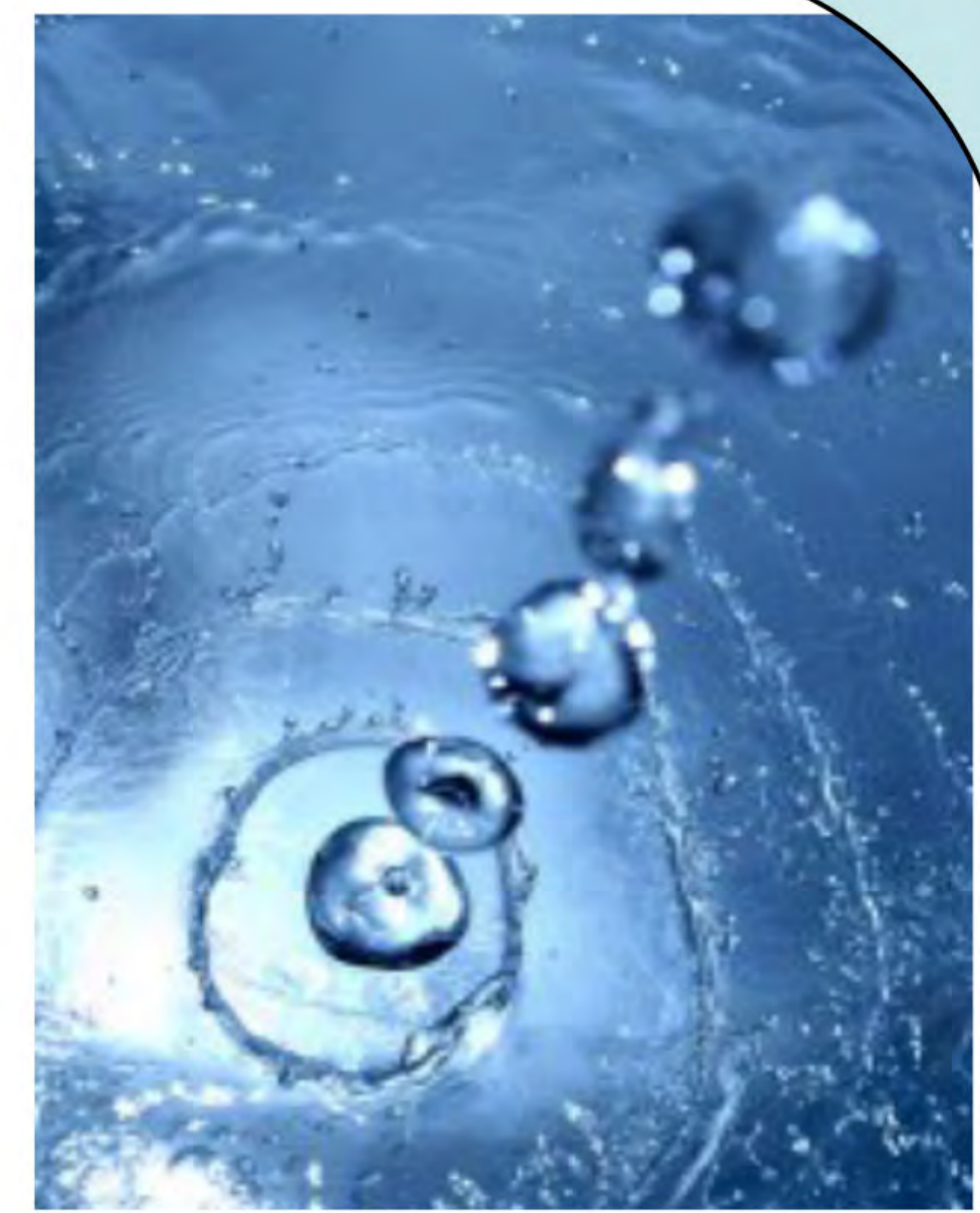
Contamination (nappes, eaux de surface)

Contamination...

... à bas bruit (BPA: conduites d'eau)



Adduction eau de ville



Captage



Consommation



Distribution

College de Gynecologie CVL

Les contaminants alimentaires: inventaire chiffré

- **Pesticides < 600 substances**
- **Médicaments vét. < 600 substances**
- **Agents chimiques > 70 000 subst.** (nanoparticules...)
 - données incomplètes ou absentes pour 70%
 - des initiatives Européennes (ex REACH)
- + **Contaminants néoformés** (acrylamide...)
- + **Migrats d'emballage** (BPA, Phtalates...)
- + **Toxines** (dioxines, mycotoxines...)

Quelques définitions (1)

- **CONTAMINANT/ TOXINE**

Toute **substance non intentionnellement ajoutée** à la denrée alimentaire, mais cependant **présente dans celle-ci comme résidu** de la *production* (y compris les traitements appliqués aux cultures et au bétail et dans la pratique de la médecine vétérinaire), de la *fabrication*, de la *transformation*, de la *préparation*, du *traitement*, du *conditionnement*, de *l'emballage*, du *transport* ou du *stockage* de ladite denrée, **ou à la suite de la contamination par l'environnement.**

- **DANGER**

Agent biologique, chimique ou physique présent dans un aliment et pouvant entraîner un effet néfaste pour la santé. *Ex : L'oxygène présente des propriétés mutagène et cytotoxique et son inhalation à l'état pur entraîne la mort de tout être vivant*

- **RISQUE**

Probabilité de voir se manifester l'effet néfaste pour la santé, du fait de la présence d'un danger dans l'aliment. *Ex l'O2 est indispensable à la vie et aux concentrations dans lesquelles il est présent dans l'environnement, ses propriétés toxiques ne se manifestent plus*

Quelques définitions (2)

- **EVALUATION DU RISQUE**

Processus basé sur des données scientifiques comprenant les étapes suivantes :
(1) **identification des dangers**, (2) **caractérisation des dangers**, (3) **évaluation de l'exposition** et (4) **évaluation des risques**

- **GESTION DES RISQUES (pouvoir public)**

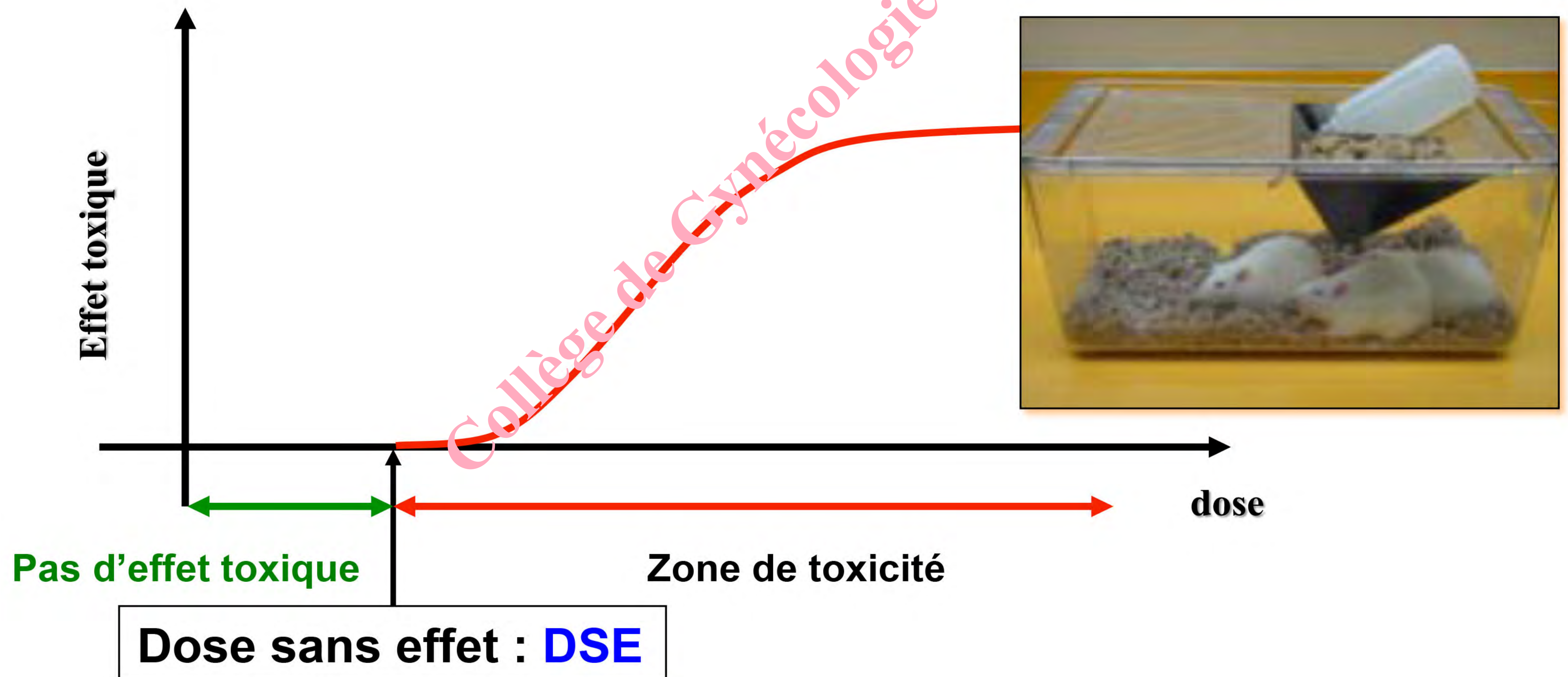
Processus, distinct de l'évaluation des risques, consistant à mettre en balance les différentes politiques possibles, et au besoin, à choisir les mesures de prévention et de contrôle appropriées

- **COMMUNICATION SUR LES RISQUES**

Agences sanitaires (saisines ANSES, EFSA, FDA), Ministère de la Santé...

Caractérisation des dangers (1)

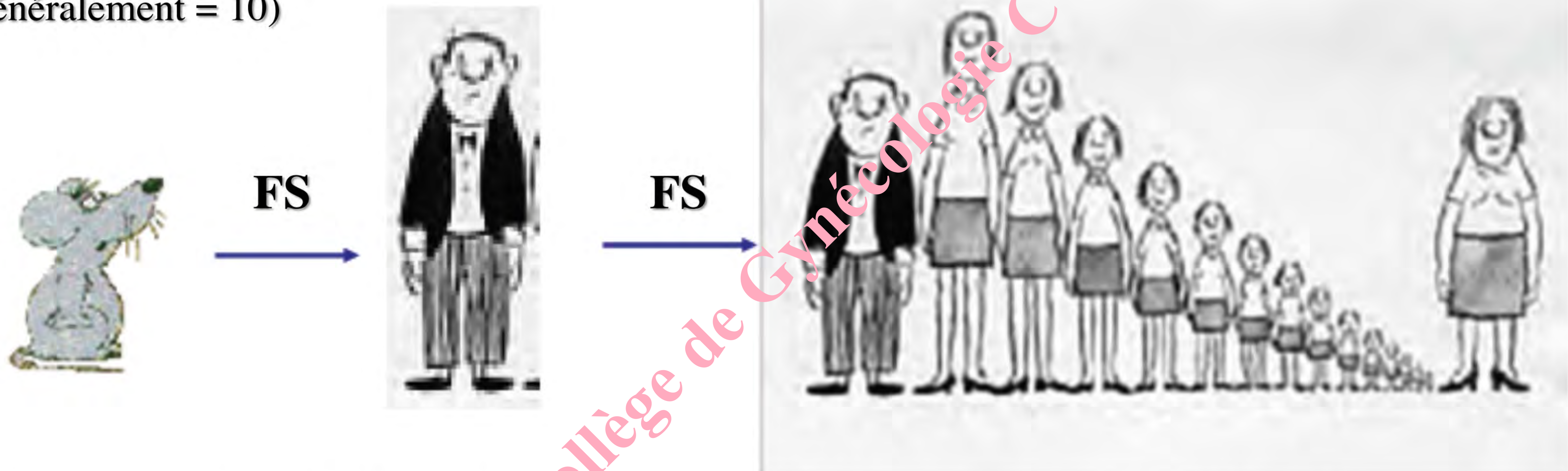
Données expérimentales :



Caractérisation des dangers (2)

Extrapolation de l'animal à l'homme :

FS = Facteur de Sécurité
(généralement = 10)



Extrapolation de l'espèce animale la plus sensible à l'Homme

Différence entre individus au sein d'une population

**Dose toxique
(pour l'animal)**

DSE (NOAEL)

**Dose sans effet
(pour l'animal)**

DJT (TDI) = DSE / FS

**DJT (ou DJA)
(consommateur)**

Plastics in contact with food and beverages



PolyEthylene Terephthalate



Water bottles



High Density PolyEthylene



Plastics food containers



*PolyVinyl Chloride (flexible products / **BPA** as a polymerization inhibitor)*



Stretch films

Water pipes



Food box



Low Density PolyEthylene



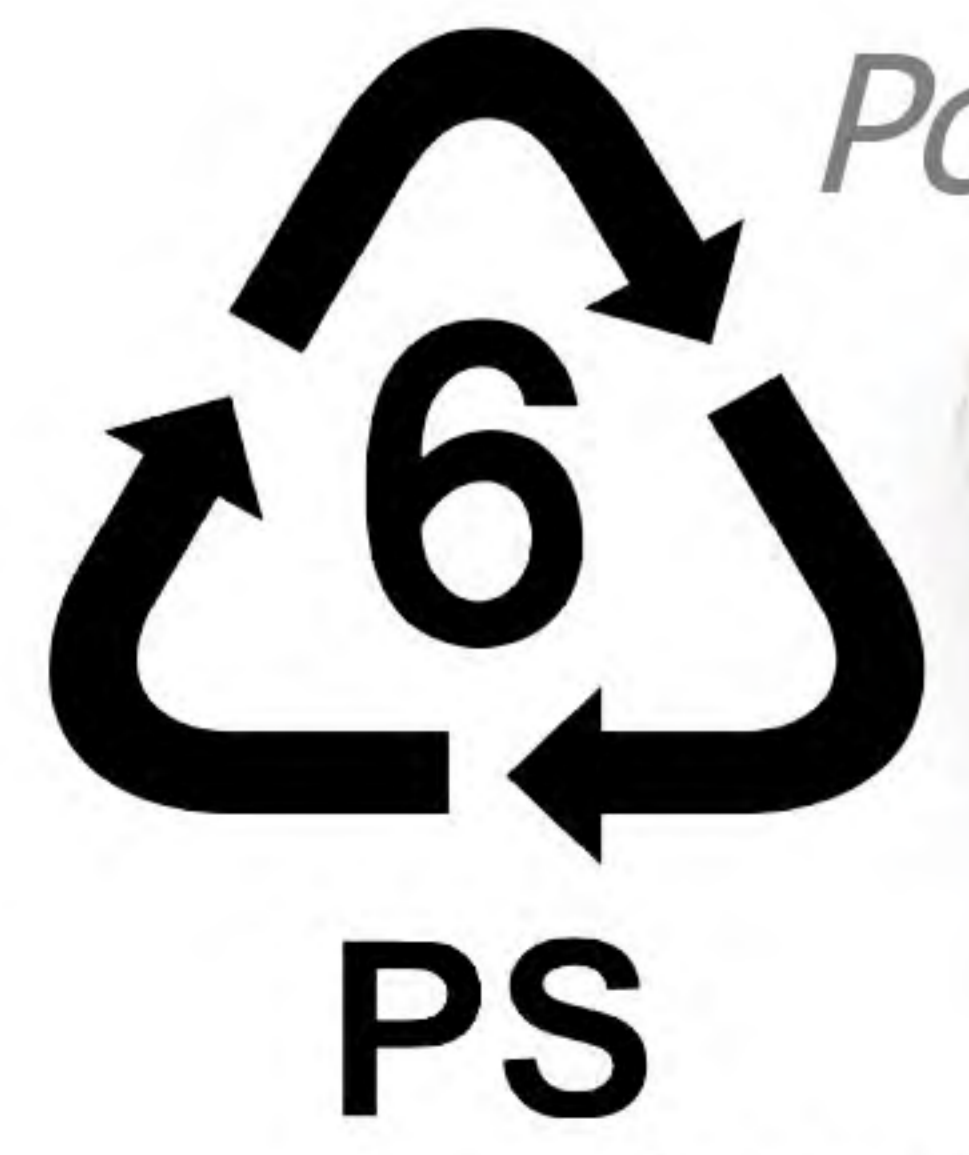
Plastic films and bags



PolyPropylene



Bottle caps, ...



PolyStyrene



Food insulation / food box / fresh products



*PolyCarbonate / epoxy resins (**BPA/BADGE**)*



Water containers



Baby bottles, other PC drink containers



Coating of metal cans (food and beverages)

Perturbateurs endocriniens (PEs) / Endocrine disruptor compounds (EDCs)

Définition : **cibles multiples...**

BISPHÉNOLS (BPA, BPA/F, BPF, BPS...), **PHTALATES** (DEHP/MEHP, PET...),
entre autres...

- ✦ Des substances capables de **simuler** (hormonomimétique) ou de **modifier les actions des hormones naturelles** (*dites* endogènes) ainsi que leur **synthèse** (inhibition/activation de voies enzymatiques), **transport** ou **dégradation** = **PERTURBATION HORMONALE**
- ✦ Des travaux **d'abord focalisés sur les hormones sexuelles** (oestrogènes, testostérone), **étendus depuis aux hormones thyroïdiennes** (TH, développement...), à **l'axe hypothalamo-hypophysaire** (contrôle de la production d'hormones sexuelles par les gonades) et à **la régulation du métabolisme intermédiaire** (ensemble des phénomènes de **dégradation** -catabolisme- et de **synthèse** -anabolisme- impliqués dans les **échanges entre la cellule et les substances** apportés par l'alimentation -substrats-) et de **l'obésité** (syndrome métabolique) = **CIBLES MULTIPLES**

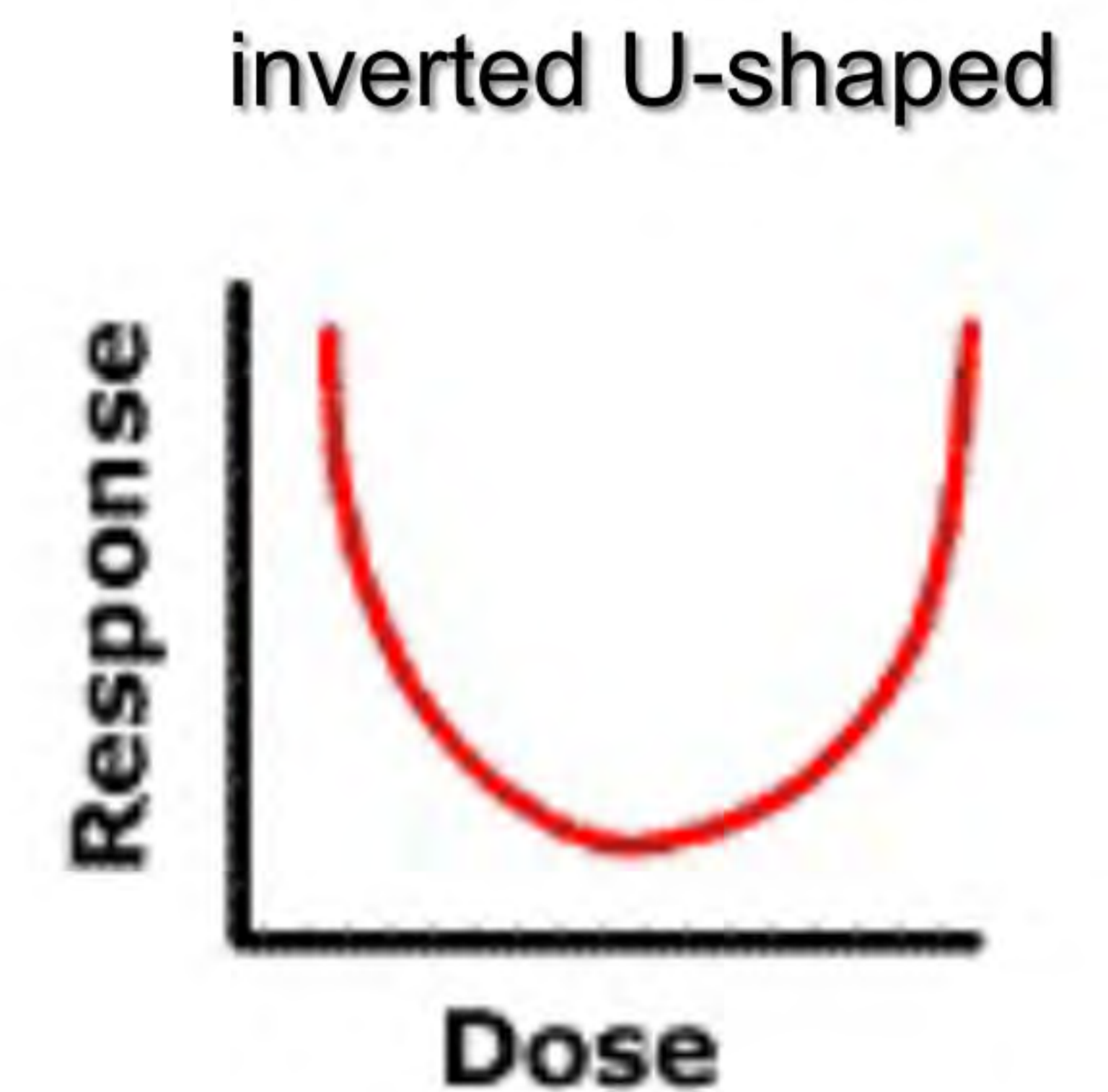
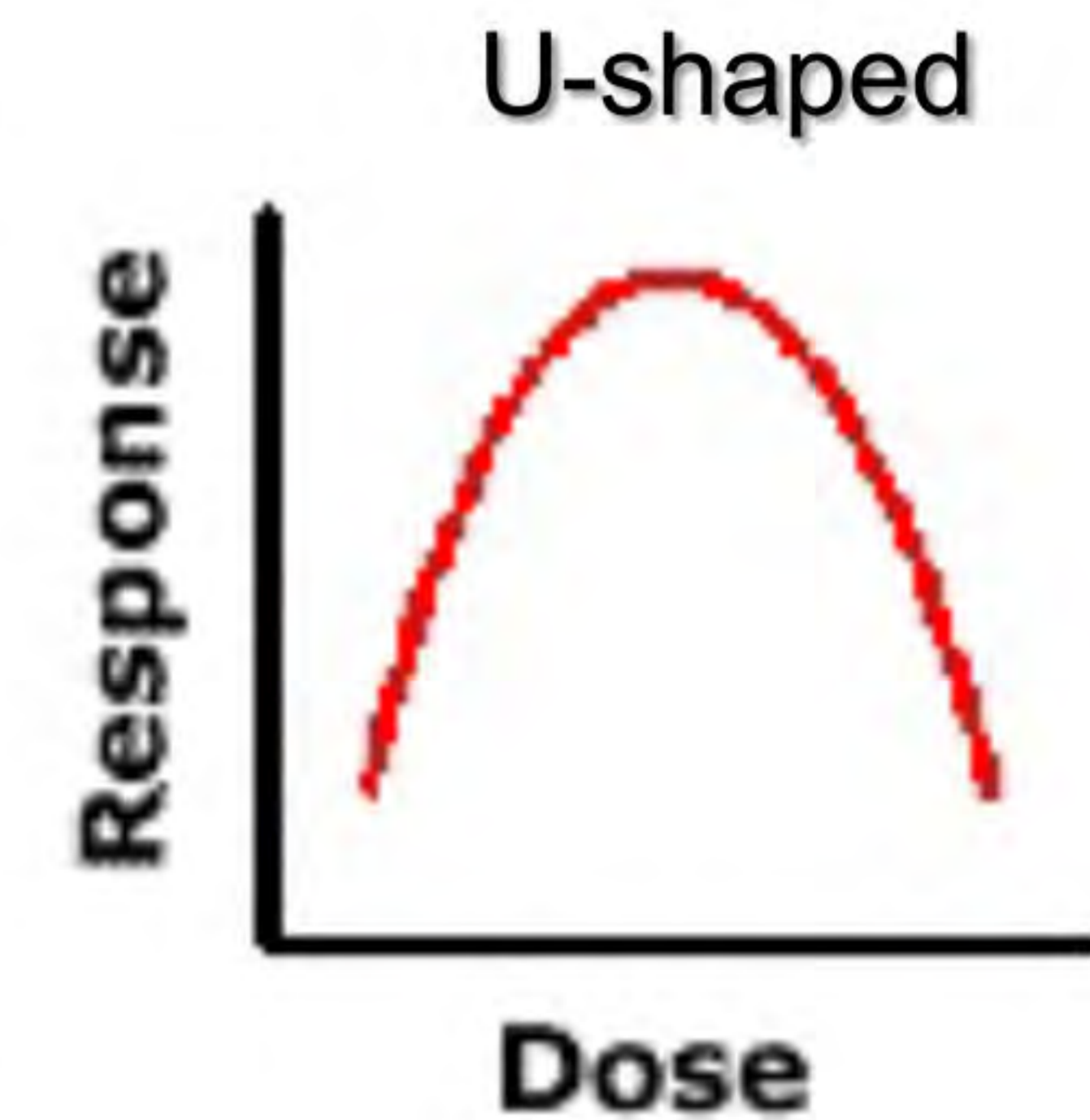
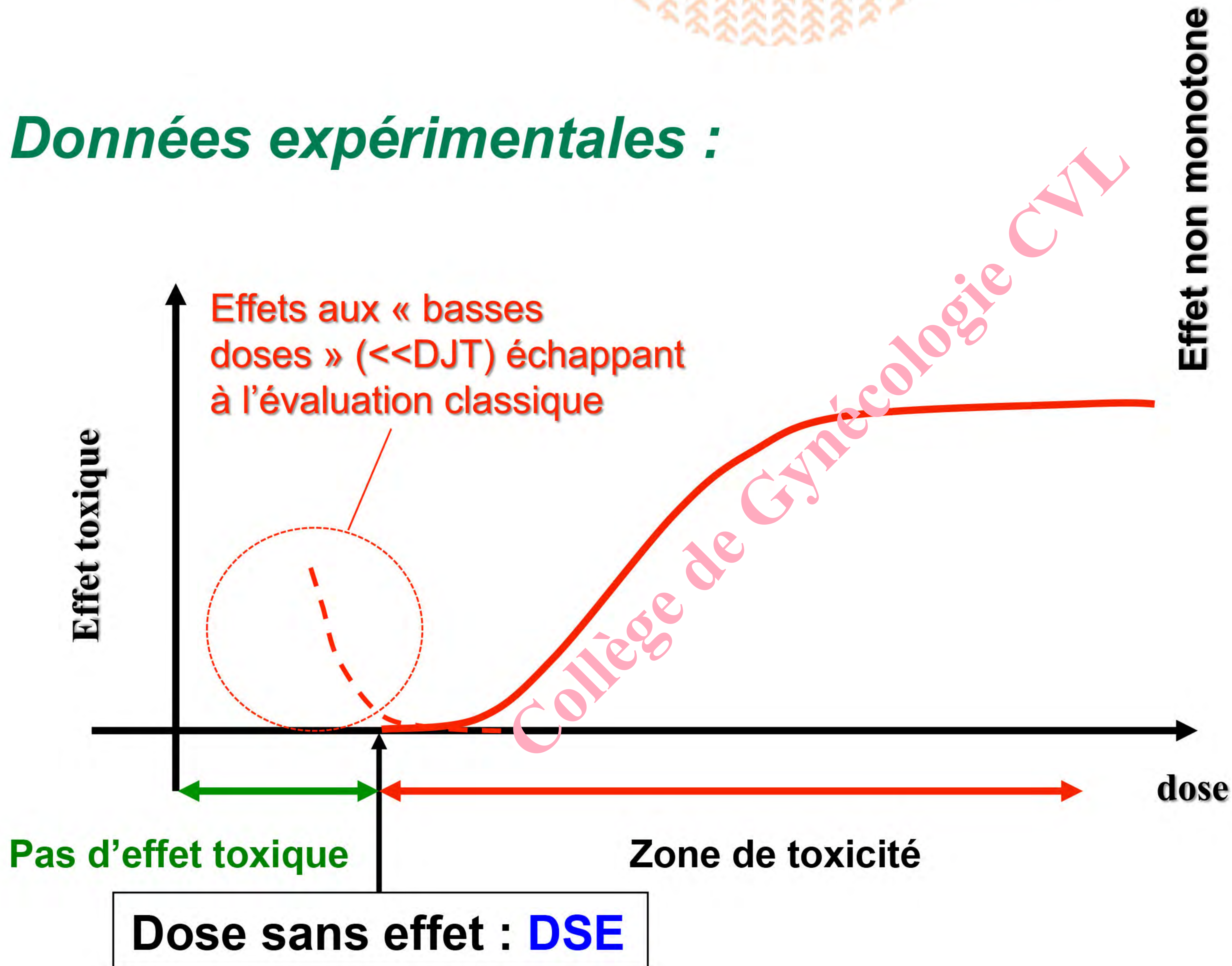
PRINCIPALES ACTIVITÉS HORMONALES IMPLIQUÉES (« migrants » des plastiques)

- ✦ **Pro-E2** (BPF>BPA>BPS, DEHP/MEHP, Triclosan, Atrazine...),
- ✦ **Anti-androgénique** (DEHP/MEHP),
- ✦ **Anti-thyroïdienne** (BPA)
- ✦ PET ????? [...]

PEs = PLURIPOTENTS
Différentes voies d'action,
souvent par une action
directe sur plusieurs
récepteurs (oestrogènes,
testostérone, hormones
thyroïdiennes...)

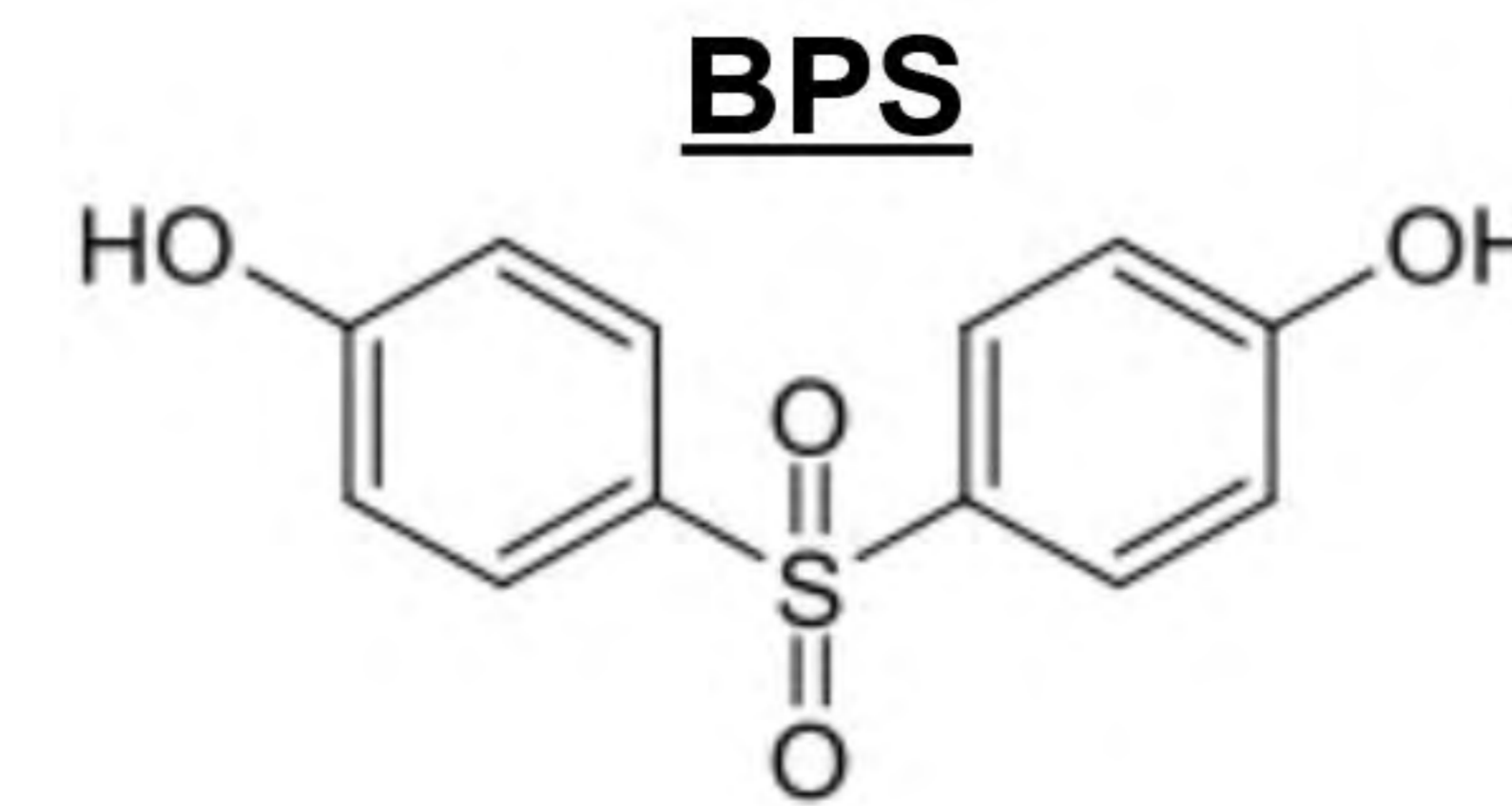
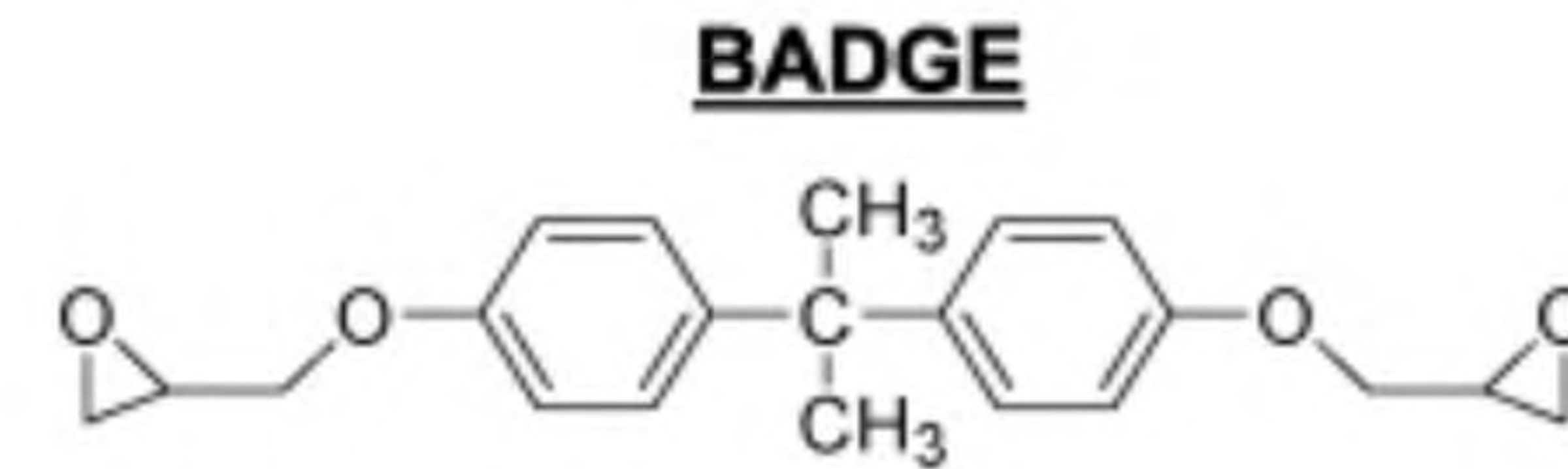
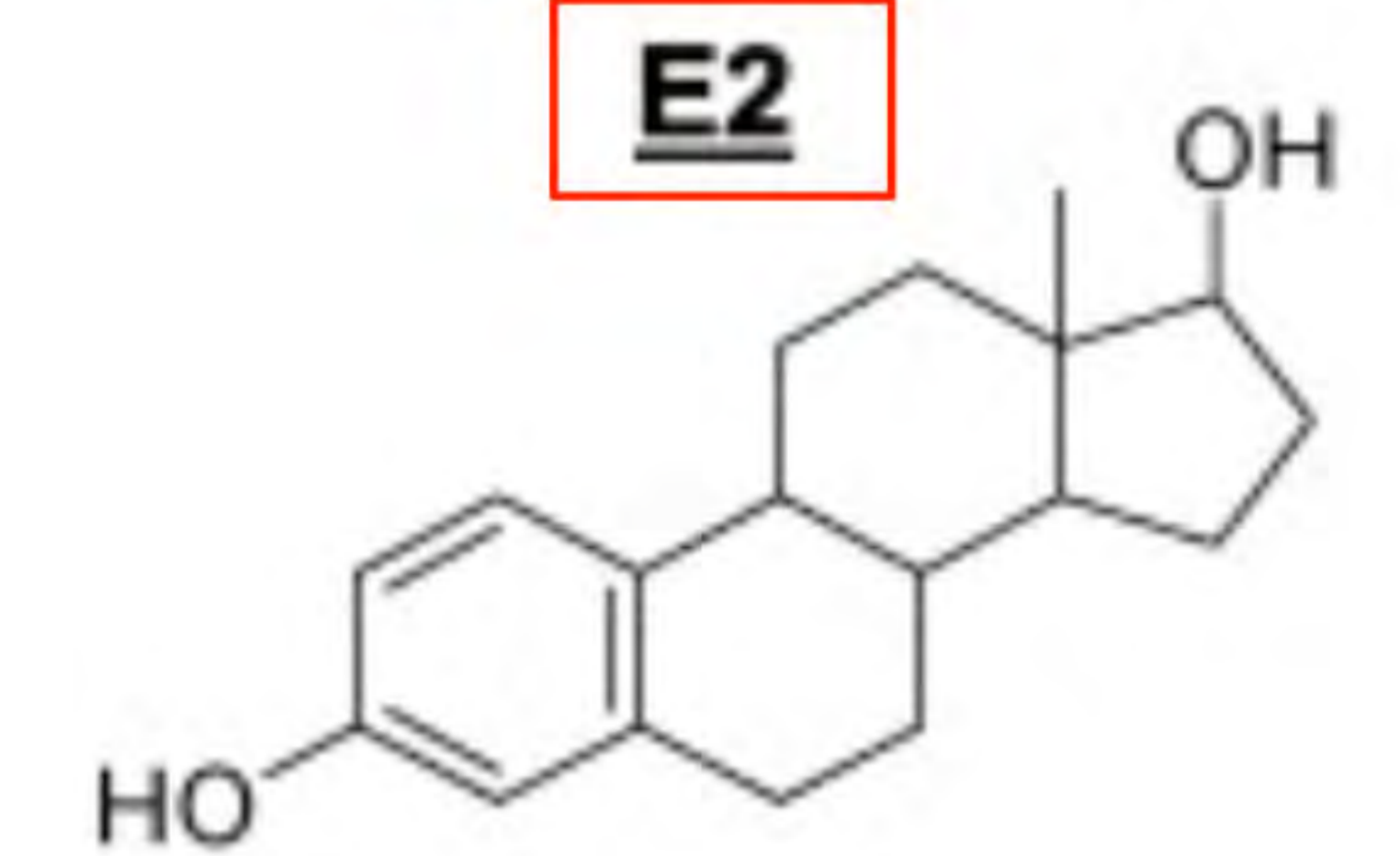
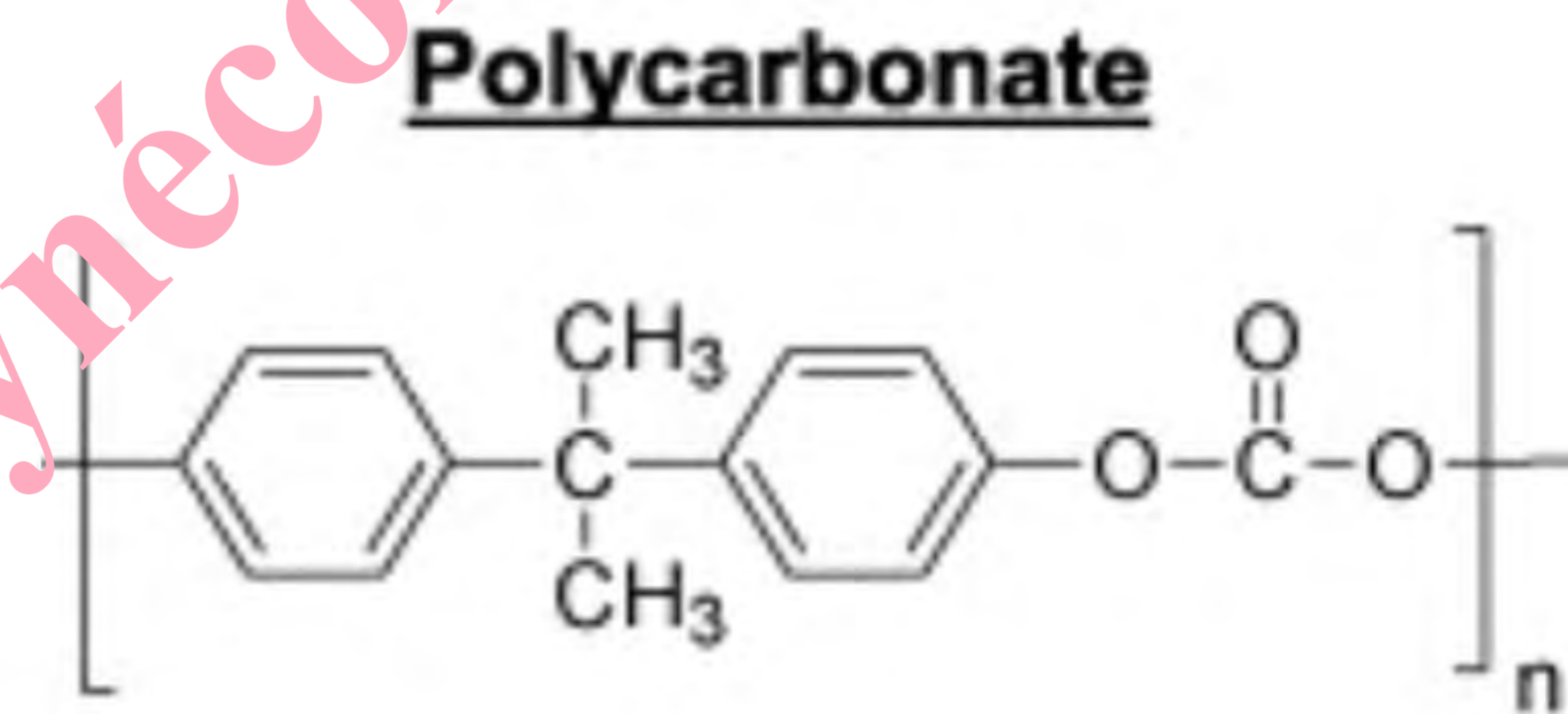
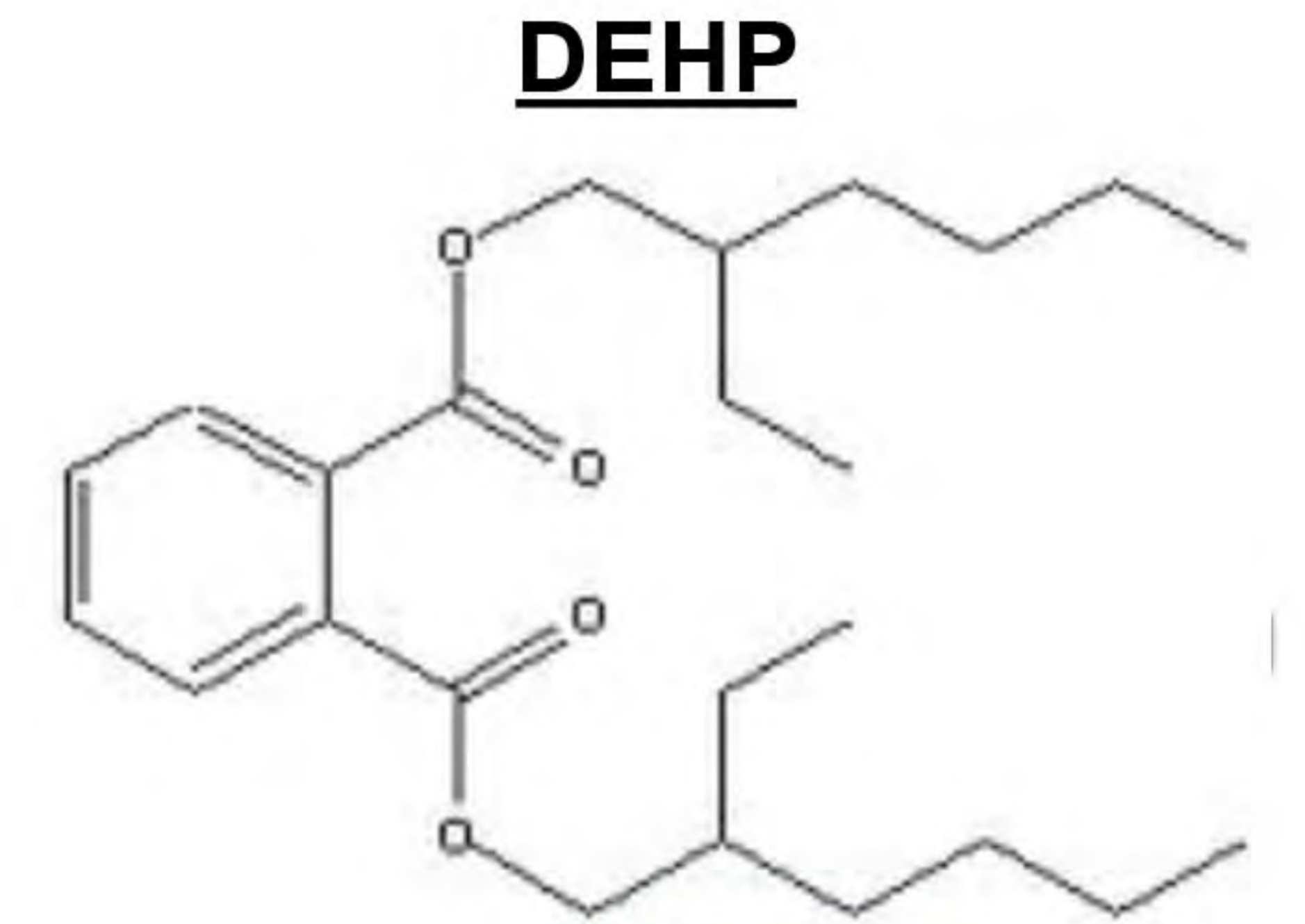
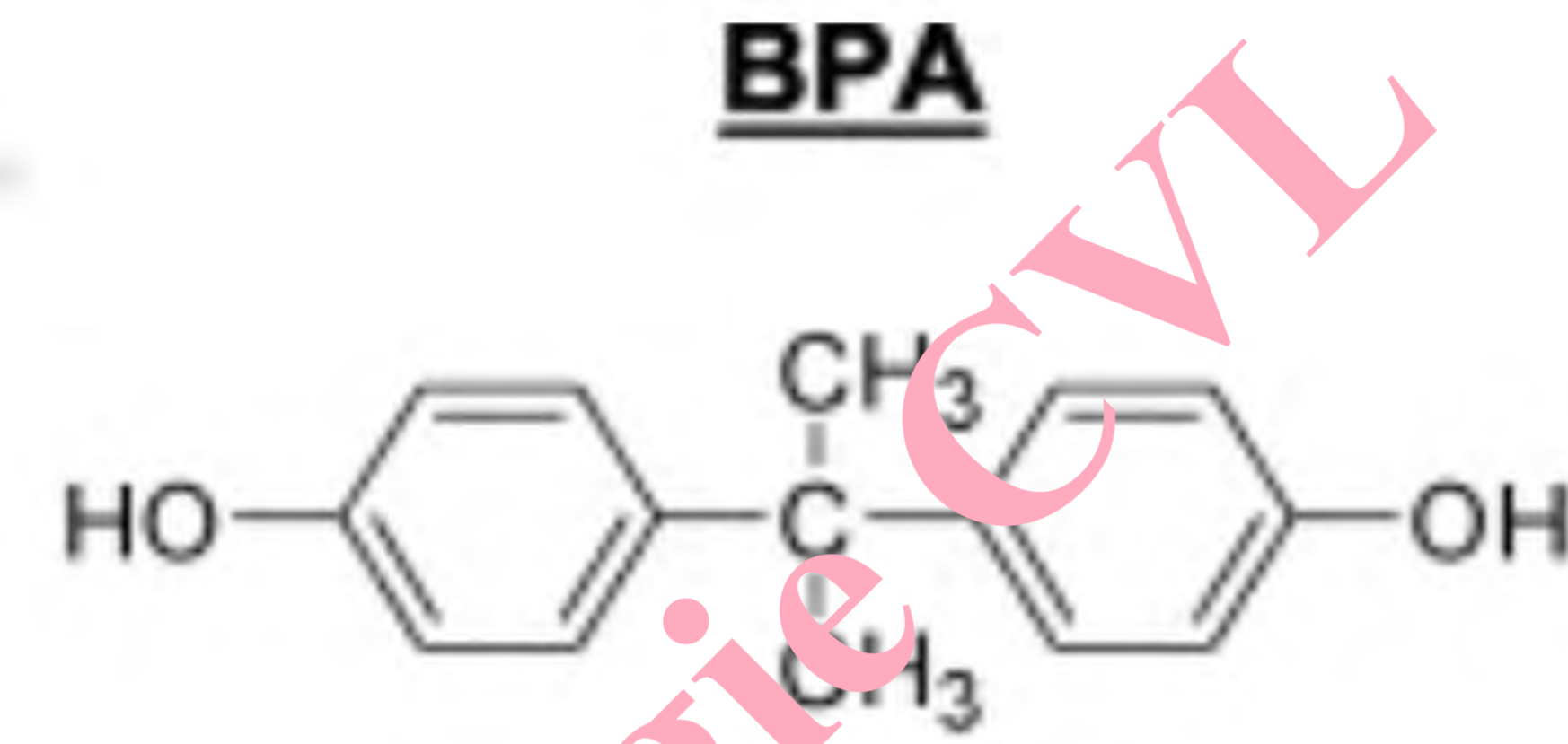
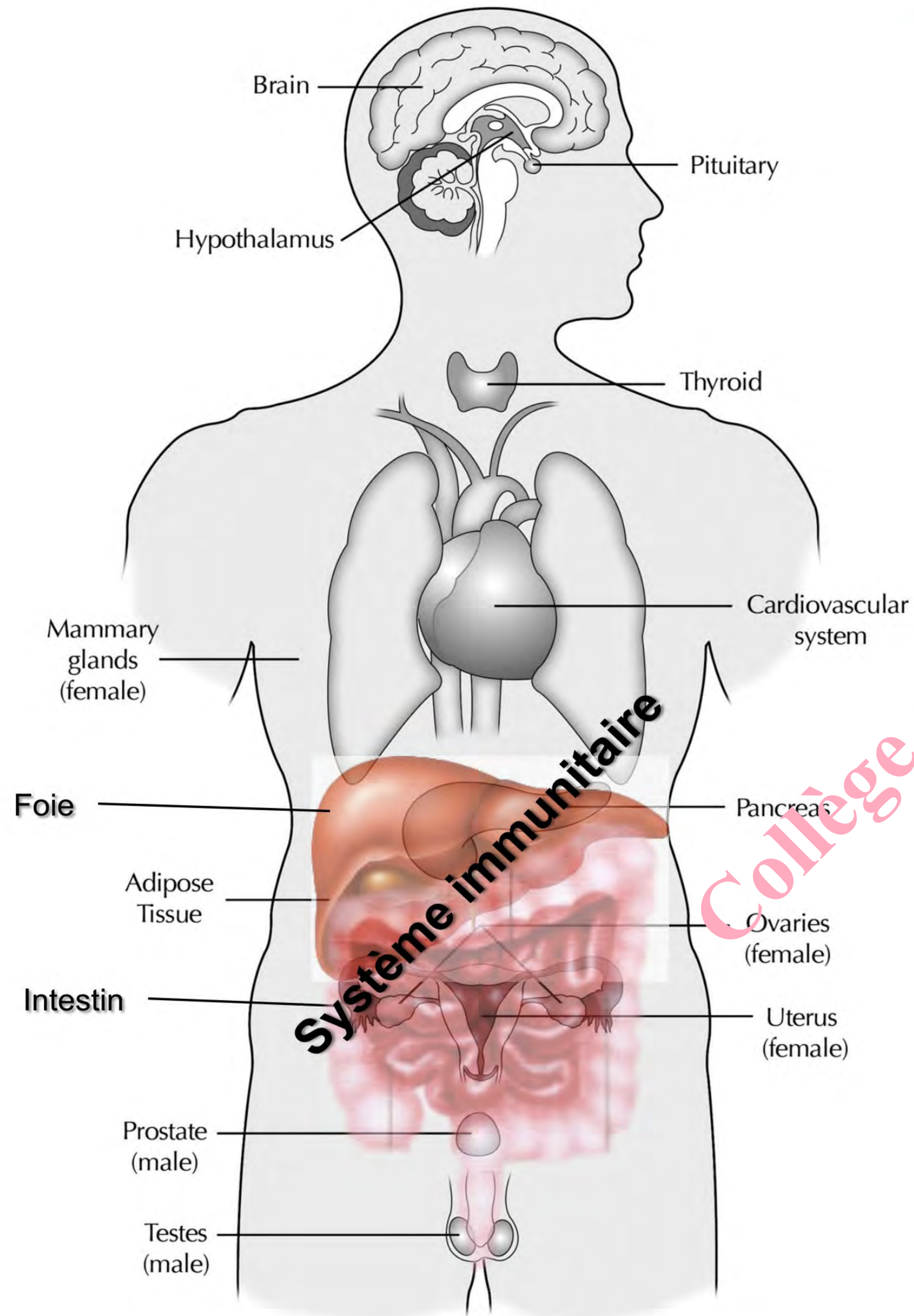
Caractérisation des dangers aux PEs

Données expérimentales :



Perturbateurs endocriniens

Définition (2) : cibles multiples... pas nécessairement « repro »



[...]

« L'exposition à des toxiques environnementaux est associée à l'apparition de nombreuses maladies, dont beaucoup reposent sur une dysfonction du système immunitaire / inflammatoire » Rees Clayton *et al*, EHP (2011)

Research

National Health and Nutrition Examination Survey (NHANES)

The Impact of Bisphenol A and Triclosan on Immune Parameters in the U.S. Population, NHANES 2003–2006

Erin M. Rees Clayton,¹ Megan Todd,^{2,3} Jennifer Beam Dowd,^{2,4} and Allison E. Aiello¹

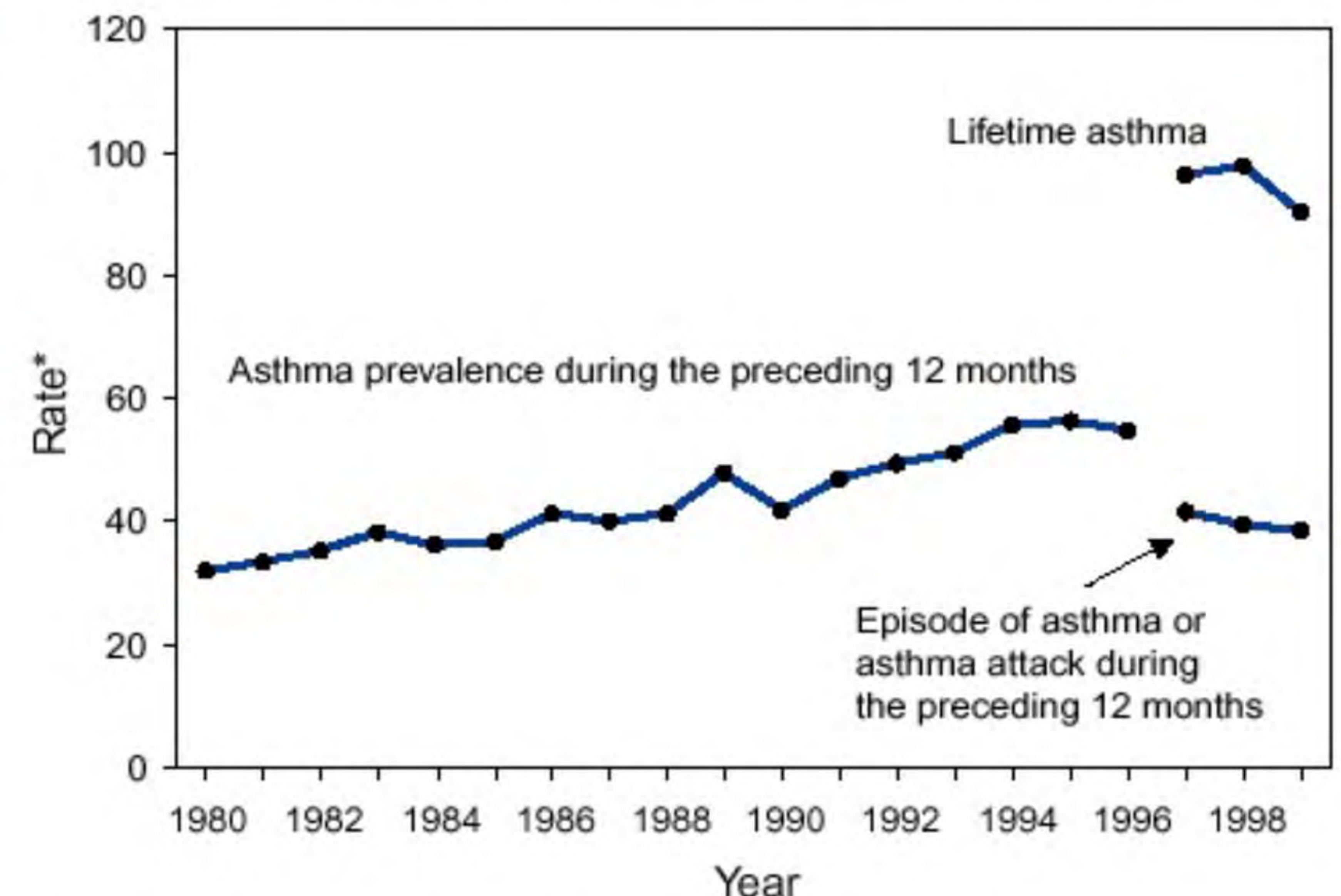
¹Department of Epidemiology and Center for Social Epidemiology and Population Health, University of Michigan School of Public Health, Ann Arbor, Michigan, USA; ²Institute for Demographic Research, City University of New York, New York, New York, USA; ³Woodrow Wilson School of Public and International Affairs and Office of Population Research, Princeton University, Princeton, New Jersey, USA; ⁴School of Public Health, Hunter College, City University of New York, New York, New York, USA

Une exposition chronique aux PEs peut altérer les fonctions immunes humaines, suggéré par des niveaux élevés d'anticorps CMV (infection à *cytomegalovirus*), le constat d'allergies ou de rhume des foins chez les personnes présentant des niveaux détectables de Triclosan* et/ou de BPA dans les urines.

*antifongique/antibactérien à large spectre
PE pro-oestrogénique

Stoker *et al*, Toxicol Sci (2010)

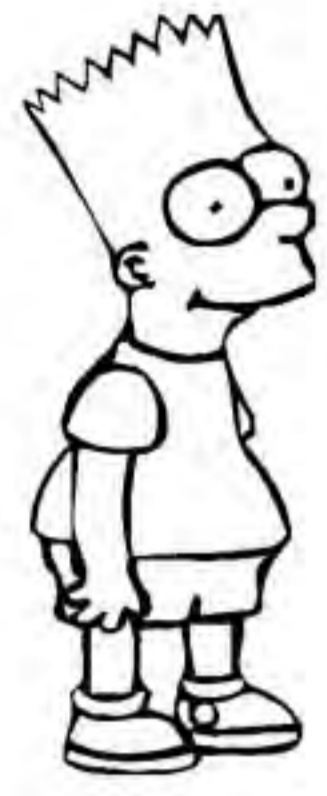
FIGURE 2. Estimated annual prevalence* of asthma — United States, National Health Interview Survey, 1980–1999



* Per 1,000 population; age-adjusted to the 2000 U.S. population.

Mannido *et al*, MMWR Surveil Summ (2002)

✦ **PHTALATES** (plastifiant: PVC, sols vinyls, jouets, cosmétiques...)



Jaakola et al, Am J Public Health (2000) : cohorte **Finlande** (2568 enfants; 1-7 ans), murs et sols plastiques (PVC) = risque accru de problèmes respiratoires (respiration sifflante, congestion nasale, infections respiratoires...)



Nakamura et al, Immunol Letter (2002) : DbBP, DIBP, DEHP **potentialisent** la dégranulation mastocytaire *in vitro* en présence d'antigènes

✦ **PESTICIDES** (symptômes chez personnes non exposées par la profession, plus particulièrement chez l'enfant)

Salameh et al, Eur Respir J (2003) : cohorte **Libanaise** (4000 enfants en école publique), 12% en détresse respiratoire chronique (proximité champ traité, parent jardinier...)

Fryer et al, Toxicol Science (2005) : insecticide Organophosphaté = **bronchoconstriction** hyperactivité des voies cholinergiques vagues



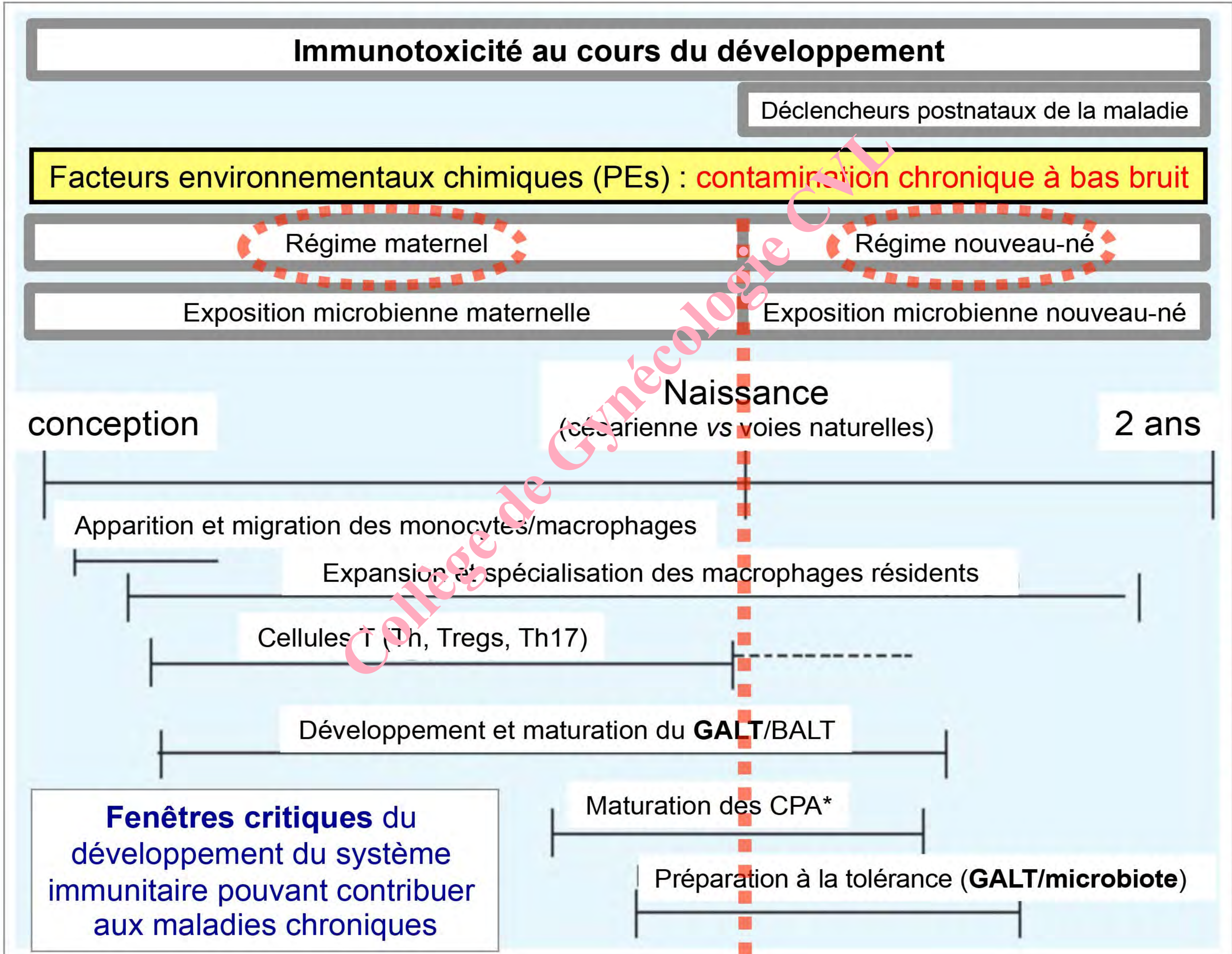
✦ **BPA et Nonylphénols (NP, agent moussant, détergent industrie textile)** (pas d'épidémiologie... essentiellement des données d'exposition *in vitro* et modèles murins)

Lee et al, Immunology (2003) : BPA, NPs = augmentation de la production d'IL-4 par lymphocytes CD4+T et d'IgE sériques (mécanisme Ca²⁺ dépendant): **profil d'allergie**

Midoro-Horiuti et al, EHP (2010) : BPA_{10 µg/ml} eau boisson souris gestante + challenge OVA nouveau-né = sensibilisation F1 (**augmentation IgE pour l'allergène et inflammation bronchiale**)

Période périnatale = **fenêtre critique** d'exposition aux PE

« Le système immunitaire en développement est très sensible à des modifications ou perturbations d'origine environnementale, bien plus que le système immunitaire mature des adultes » revue dans Dietert *et al*, EHP (2010)



*cellules présentatrices d'antigènes (i.e. cellules dendritiques, cellules M)

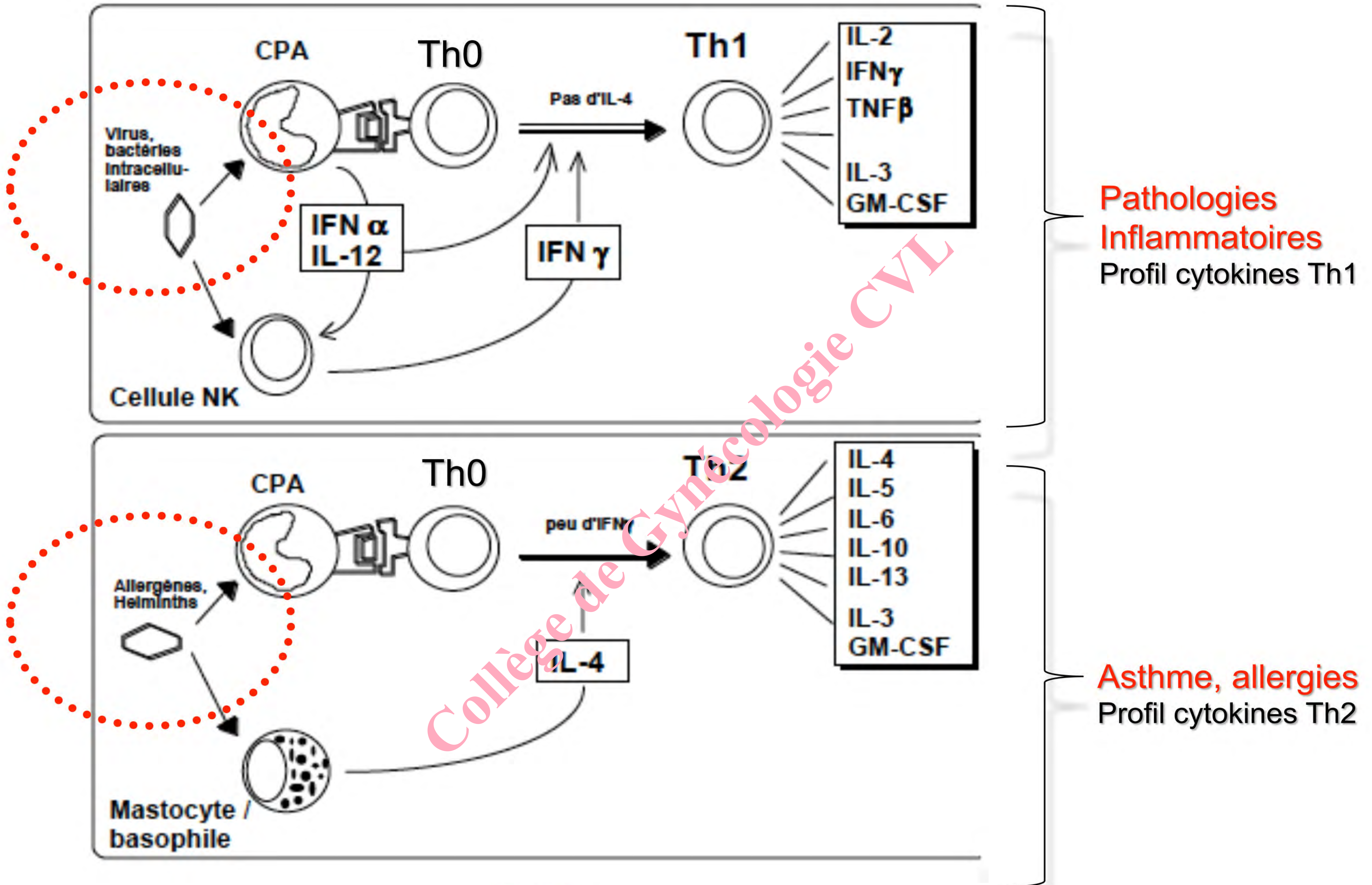


Figure 3

Les populations Th1 et Th2 sont définies par leurs profils de production de cytokines. Selon l'antigène, les premières cytokines à être produites seront différentes. Ce sont elles qui conditionnent la réponse immunitaire de type Th1 ou Th2.

27 septembre 2011

Tableau XI : Tableau récapitulatif des études sur les effets du bisphénol A sur le système immunitaire

Références	Espèces / souches	Voies	Dose Période d'exposition	Effets NOAEL/LOAEL
(Yan <i>et al.</i> , 2008)	Souris BALB/c et C57BL/6	Orale	1 - 10 et 100 nM, soit 0,07 - 0,7 et 7,0 nmol, la dose de 100 nM correspondant à un apport de 3 µg/kg pc/j 2 semaines avant l'accouplement et ensuite 1 semaine pendant la gestation	Réaction accrue à l'infection par <i>Leishmania major</i> ↗ de la production des cytokines (INF-γ, IL-4) à l'âge adulte chez les souris mâles exposées <i>in utero</i> , suite à l'induction des Th1 et Th2, dans les groupes 10 et 100 nM.
(Yoshino <i>et al.</i> , 2004)	Souris BDA/1 J	Orale	3 - 30 - 300 et 3000 µg/kg pc/j GD0 - GD18	↗ de la réponse antigène-spécifique lié à la stimulation des Th1 et Th2 à 300 µg/kg pour la plupart des réponses et à 30 µg/kg pour anti-HEL IgG2.
(Ohshima <i>et al.</i> , 2007)	Souris femelles BALB/c croisées avec des souris mâles transgéniques DO11.10 OVA-TCR-Tg	Orale	0,1 et 1 ppm exposition prénatale et pendant la période de lactation	↘ de la prolifération cellulaire en réponse à l'exposition d'ovalbumine, ↗ de la production d'IL-4 et IL-13 et IFN-γ par les splénocytes en réponse à l'ovalbumine à la dose de 1ppm ↗ production d'IFN-γ et d'IL-13 par les splénocytes après exposition orale à l'ovalbumine ↗ <i>in vitro</i> de la réponse des cellules T, changement clonal des cellules T (n'induit pas l'accumulation des CD4+CD25+) ↗ des IgG1 et IgG2a, suite à la stimulation <i>in vivo</i> par OVA (antigène oral)
(Miao <i>et al.</i> , 2008)	Rat F344	Orale	4 - 40 - 400mg/kg pc/j GD0 - PND30	↘ dose-dépendante de l'expression des cytokines IL-2, IL-12, INF-γ et TNFα chez les petits et chez les parents LOAEL = 4mg/kg pc/j
(Midoro-Horiuti <i>et al.</i> , 2010)	Souris BALB/c	Orale	5 - 10 µg/mL 1 semaine avant la gestation - sevrage	↗ significative des l'IgE inflammation éosinophilique des voies respiratoires et des l'hyper-réactivité des voies respiratoires après sensibilisation
(Goto <i>et al.</i> , 2007)	Souris transgéniques exprimant le récepteur spécifique à la protéine OVA	Orale	1,5 -1,8 mg/kg environ 2 semaines (souris âgées de 8 à 15 semaines)	↘ de la sécrétion des IL-2 et - 4 et de l'INF-γ et ↗ de la sécrétion des IGA et IgG2a Après administration de l'antigène, ↗ de la production de l'INF-γ par les cellules T et modification des cellules qui présentent l'antigène (antigen presenting cells) qui agissent sur les cellules T en supprimant la production des cytokines.

Point commun = surproduction de cytokines + tendance vers profil Th2 (allergies)

Effets sur le système immunitaire

Chez l'Homme :

- La seule étude disponible traitant des effets du BPA sur le système immunitaire ne permet pas de conclure (étude NHANES 2003-06).

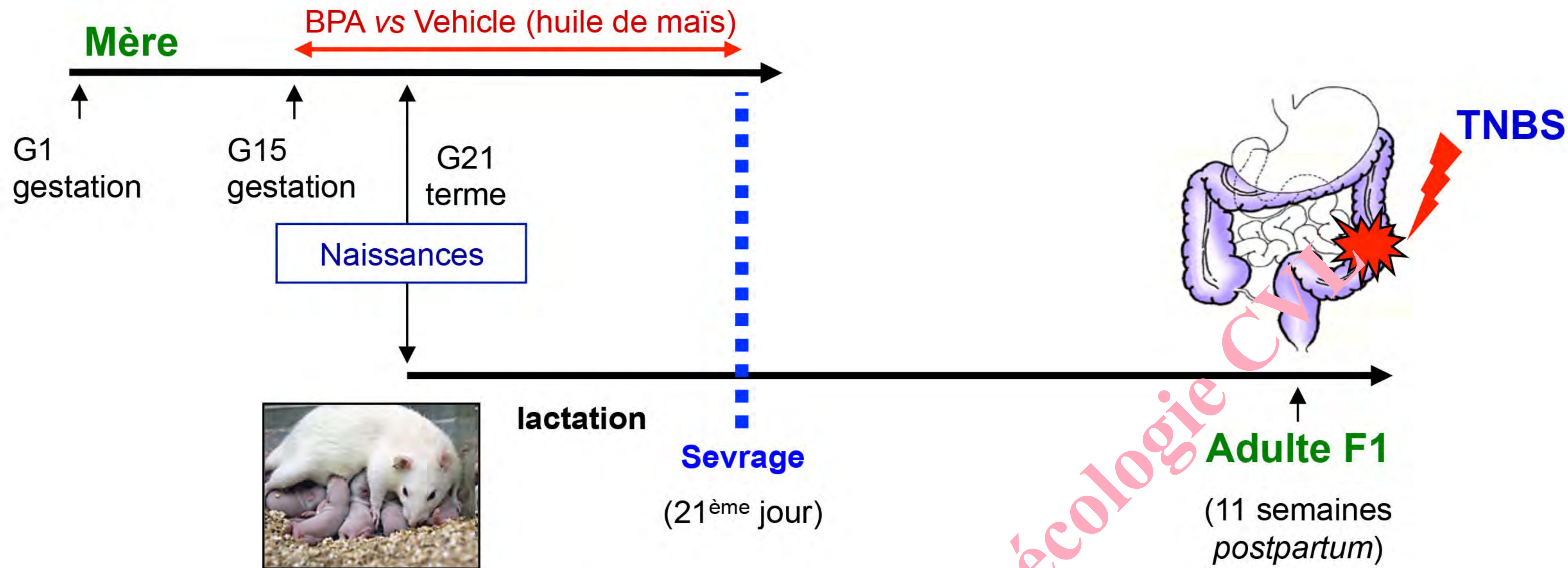
Chez l'animal :

- L'induction des lymphocytes T, et plus particulièrement des lymphocytes Th2, accompagnée de la surproduction des cytokines est **considérée comme un effet avéré**. Le déplacement observé de la réponse immunitaire est plutôt **en faveur de l'induction d'un profil prédisposant à l'allergie** (prolifération et activation de lymphocytes Th2 et synthèses de cytokines impliquées dans l'allergie).

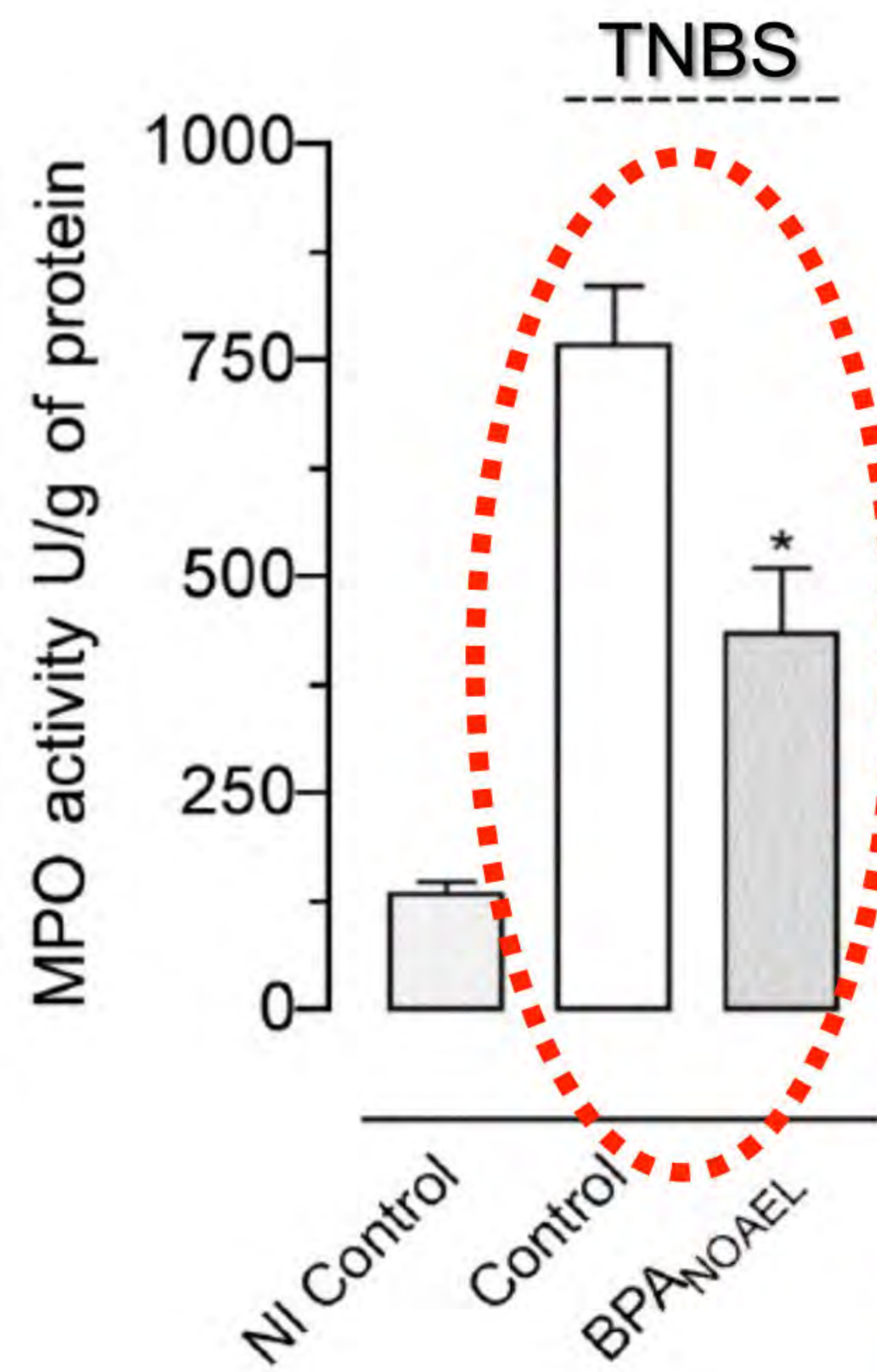
A ce stade l'extrapolation de ces observations chez l'Homme n'est pas connue.

Exposition périnatale: vers un déséquilibre immunitaire à l'âge adulte

Braniste *et al* Proc Natl Acad Sci USA (2010)



Exposition directe

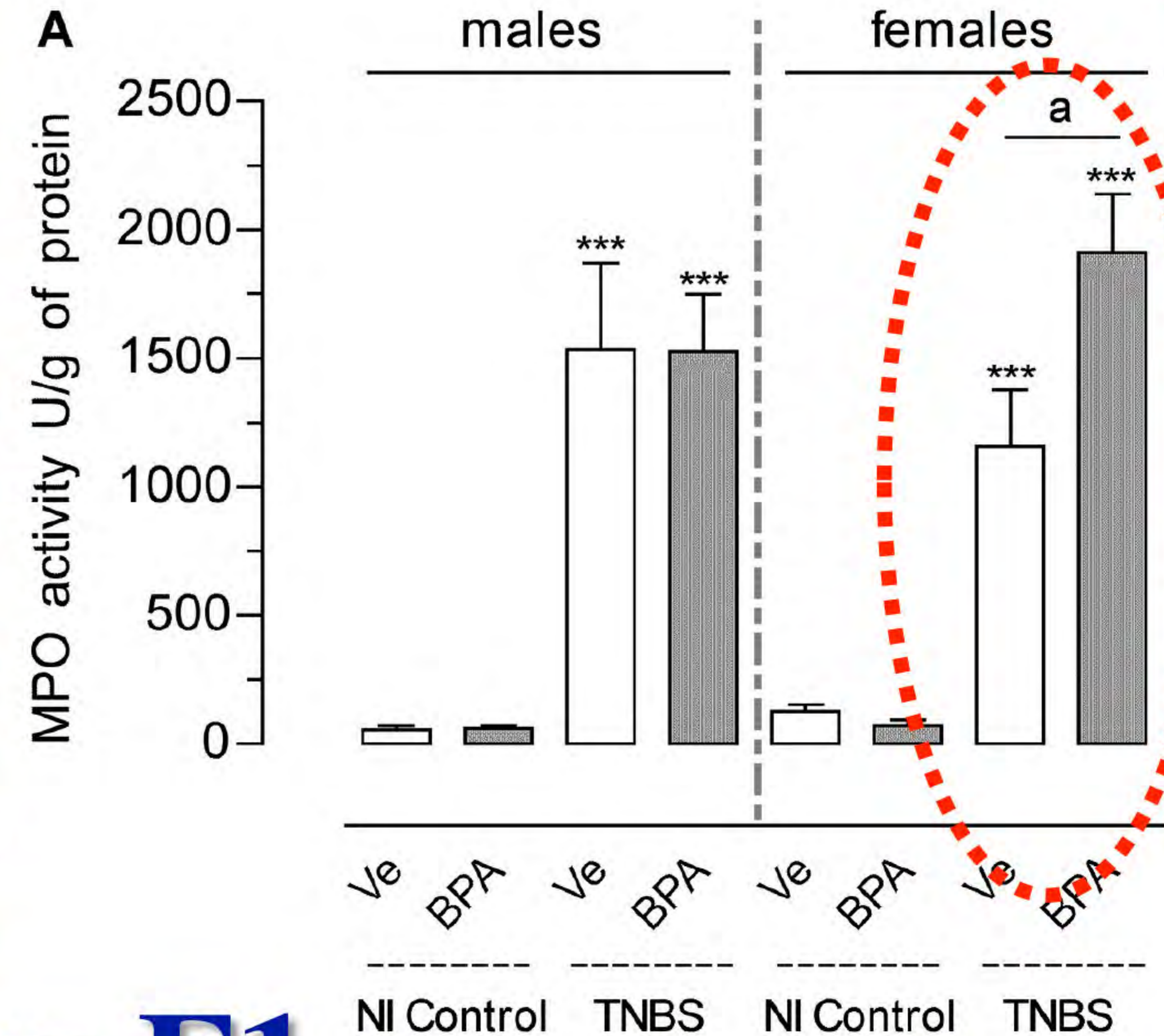


Anti-inflammatoire

adulte

Inflammation

Exposition périnatale



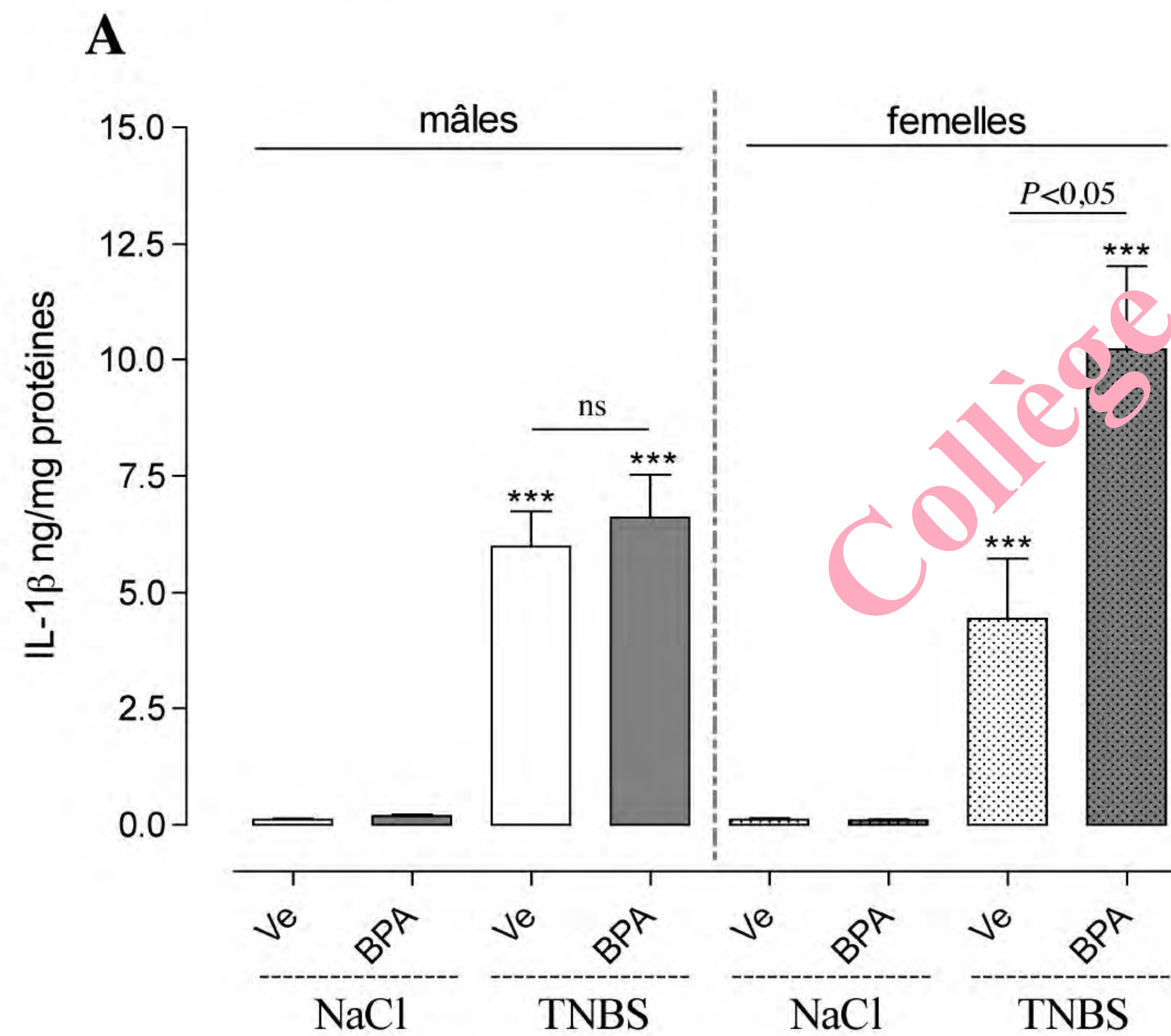
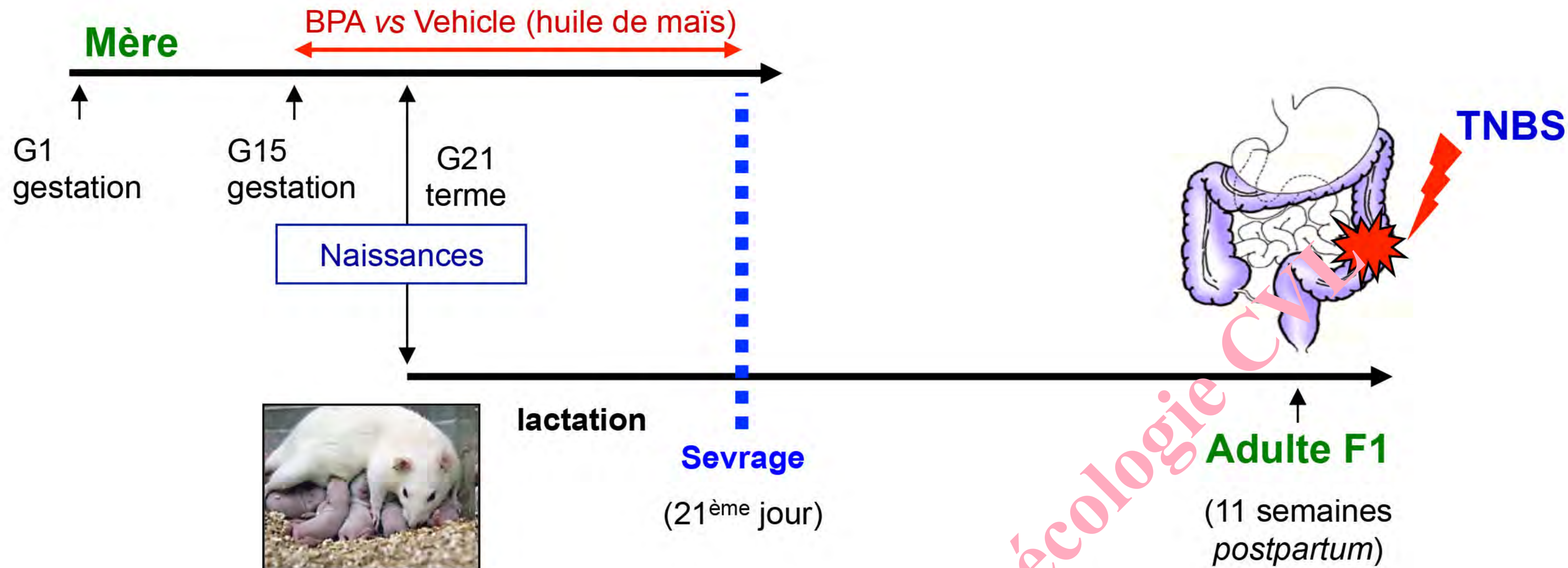
Pro-inflammatoire

11 sem.

Colite sévère chez F1 si exposition périnatale

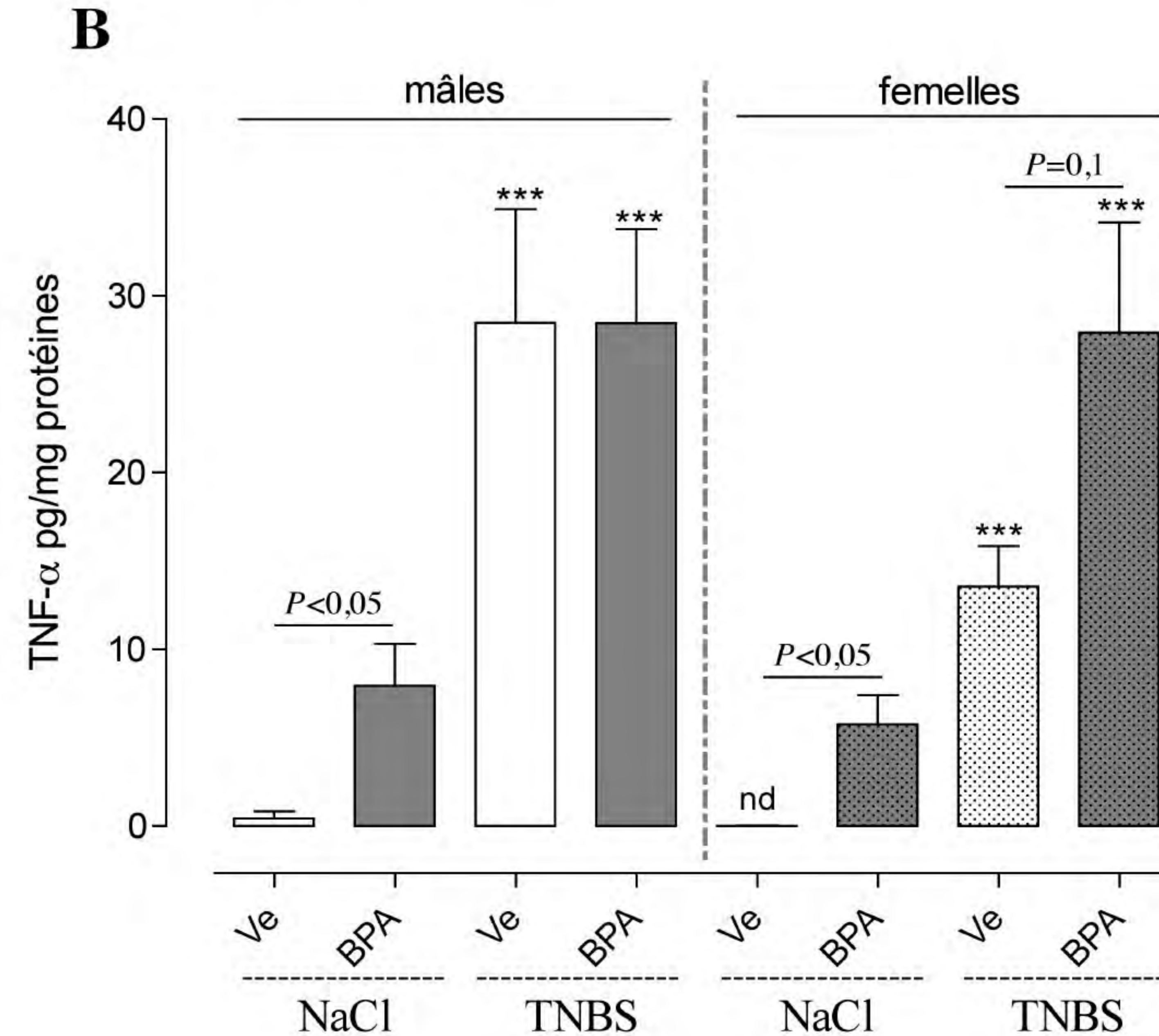
Exposition périnatale: vers un déséquilibre immunitaire à l'âge adulte

Braniste *et al* Proc Natl Acad Sci USA (2010)



IL-1 β

Profil Th1

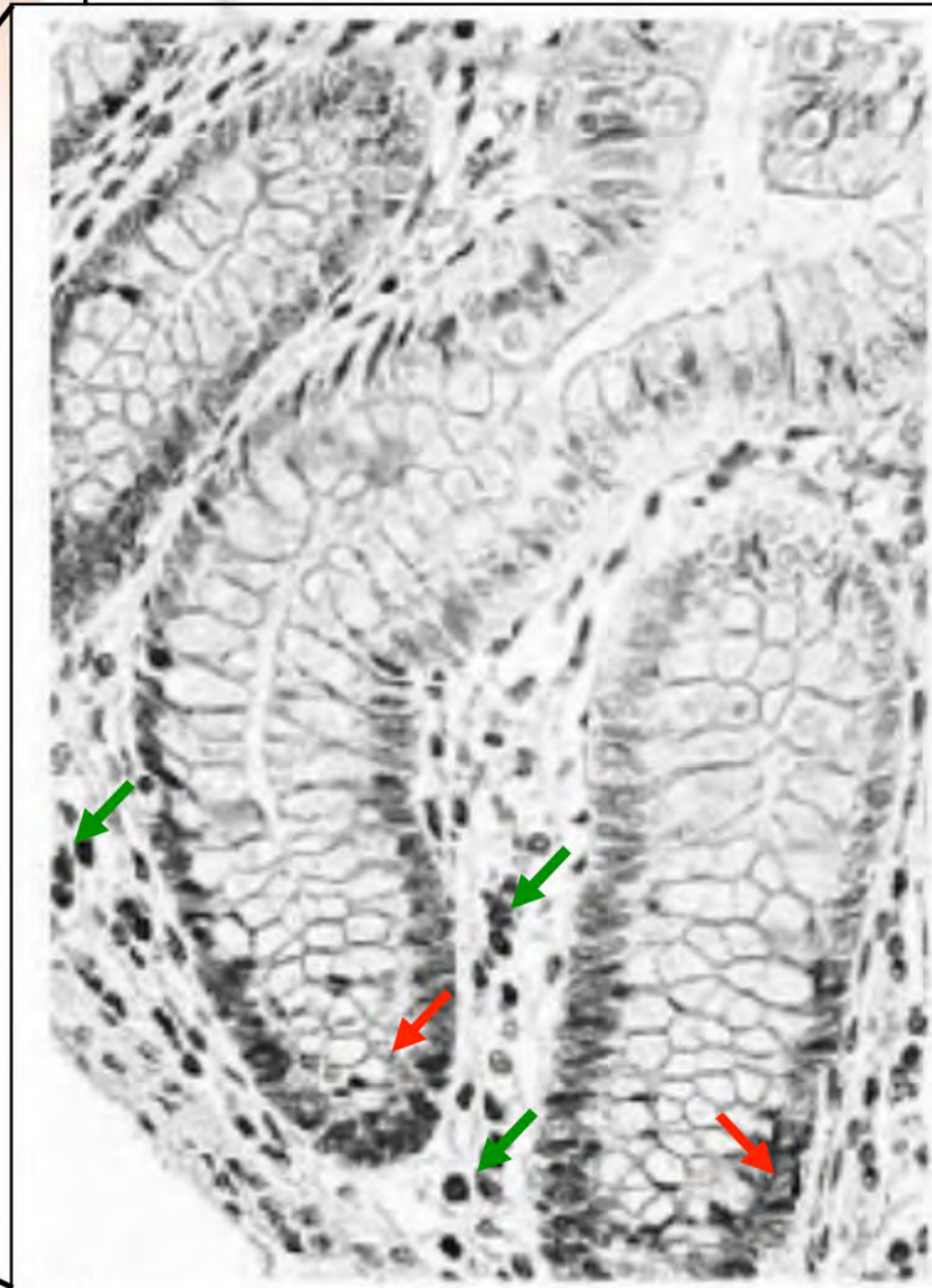
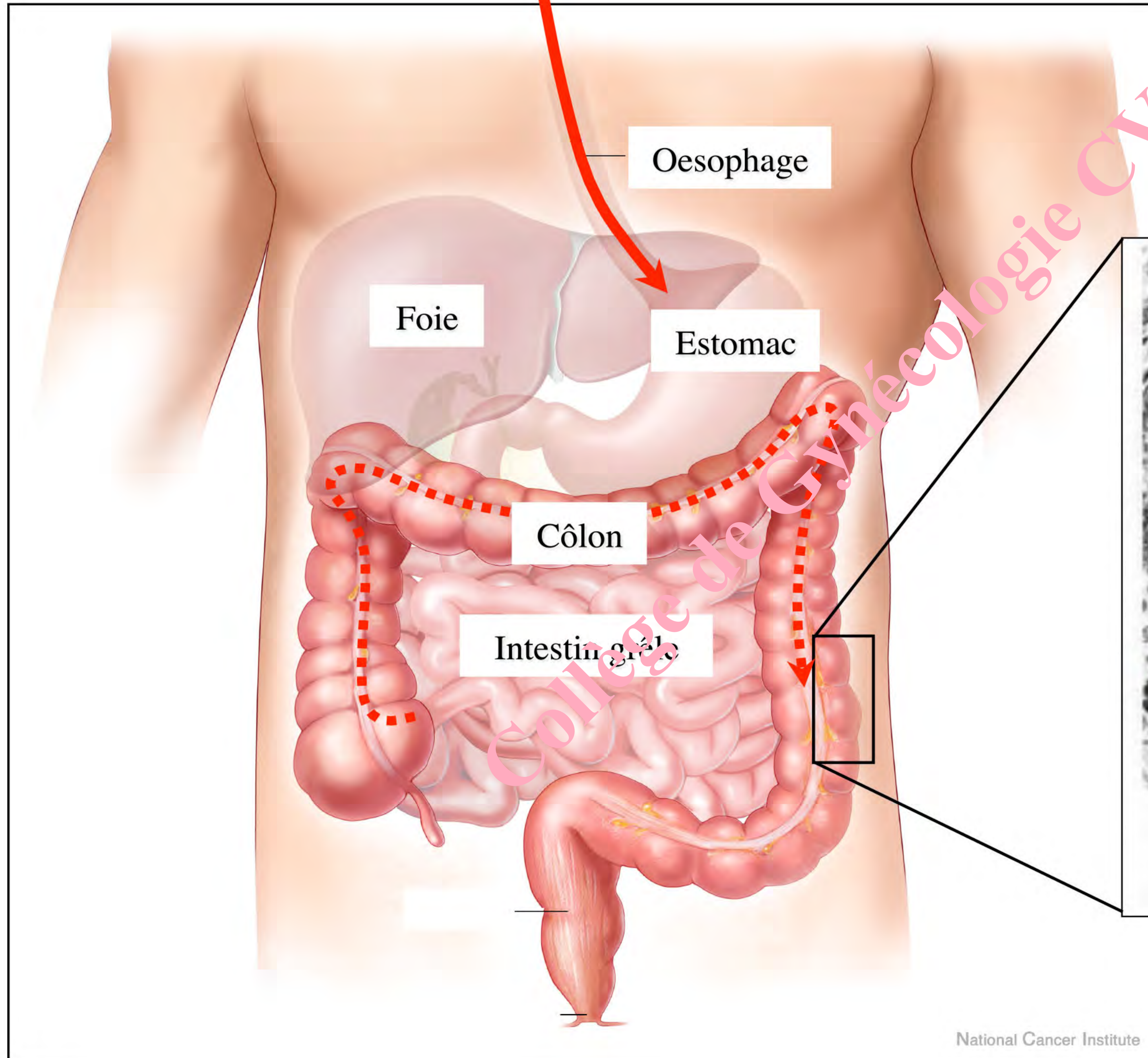


TNF α

PERTURBATEUR ENDOCRINIEN

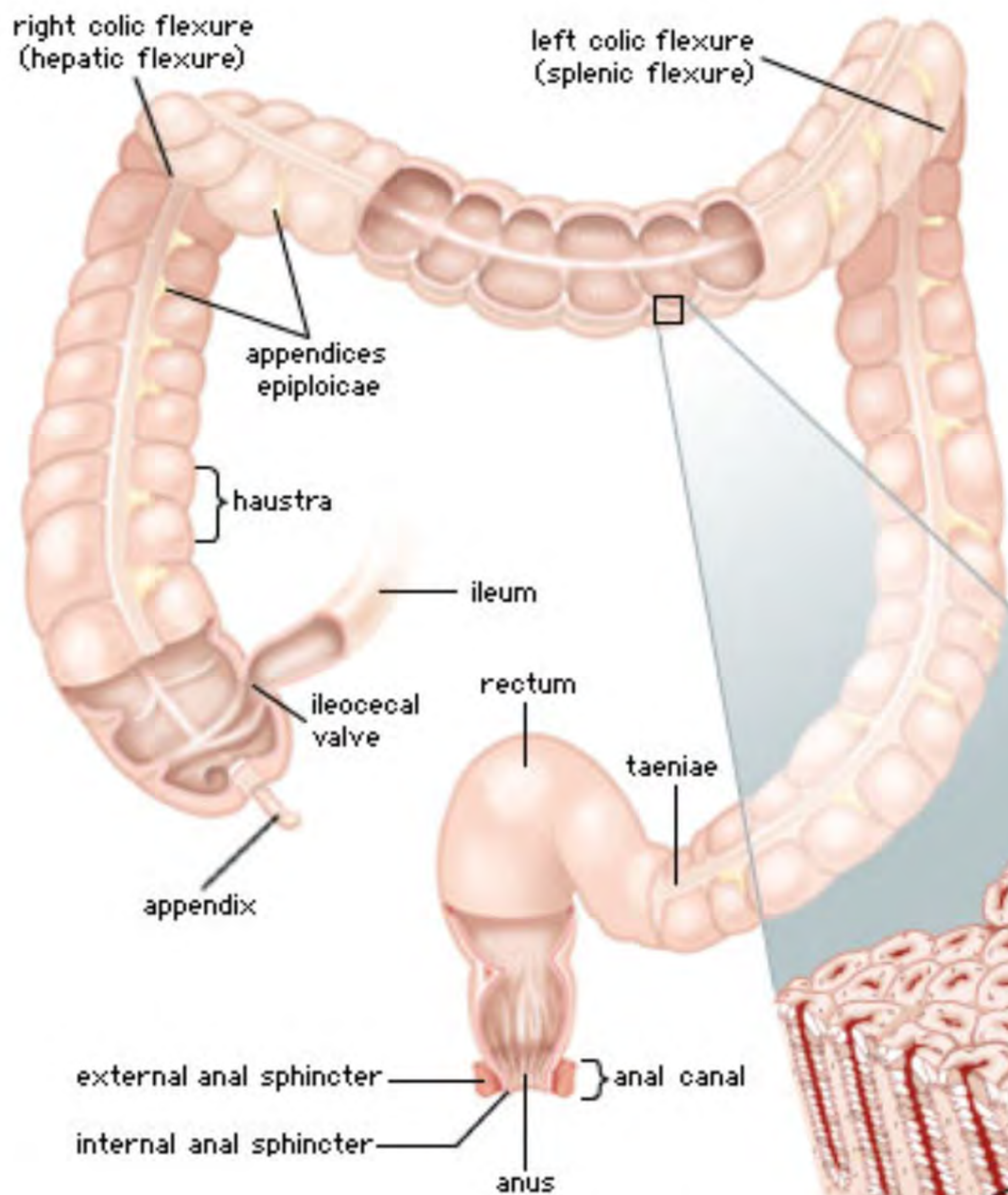
PEs oestrogénomimétiques:

- Bisphenol A (BPA)
- BPS (tickets caisse...)
- Triclosan
- Phtalates (DEHP, MEHP,...)
- [...]
- Cadmium (métalloestrogène)
- Génistéine, équol (soja)

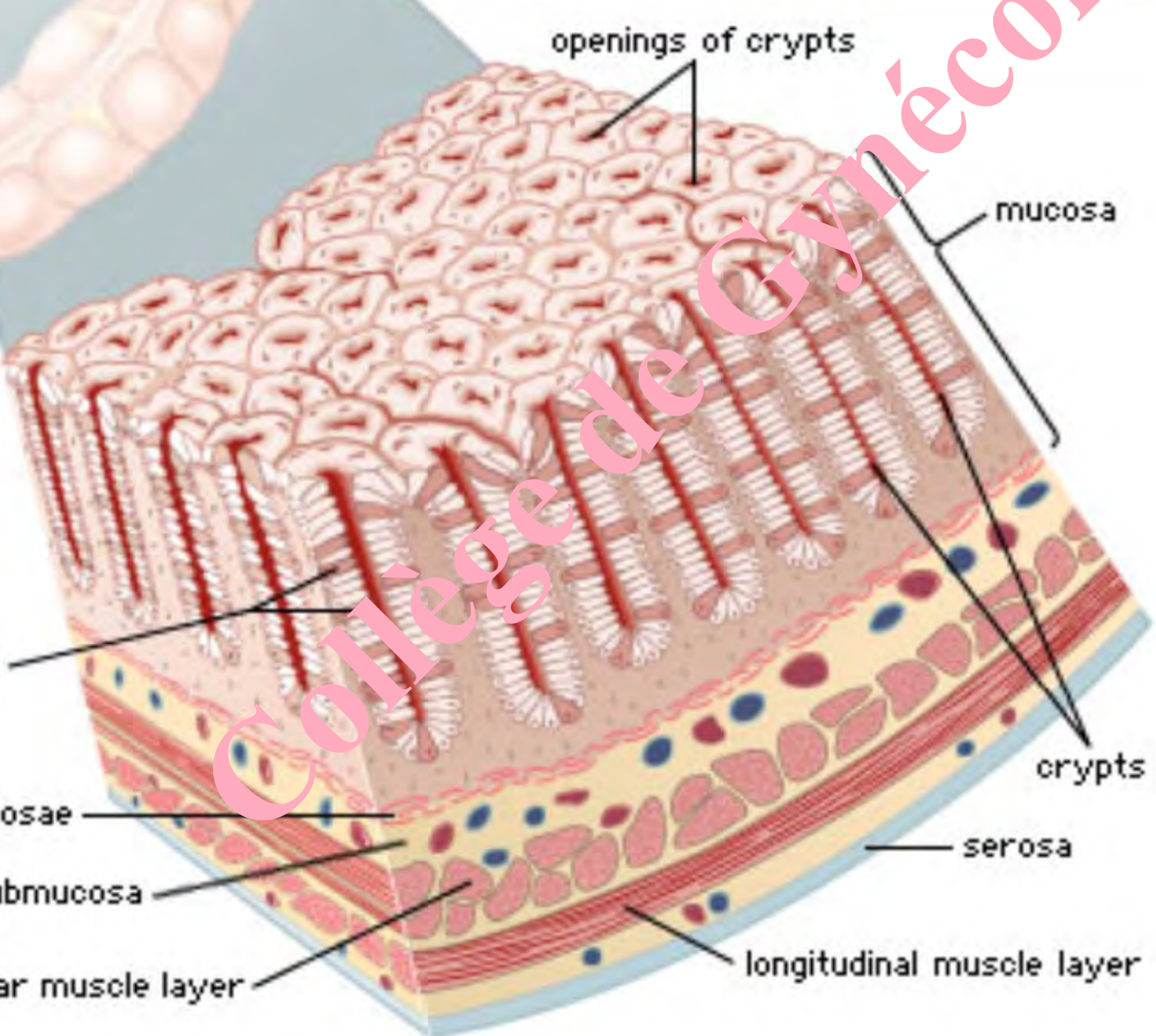
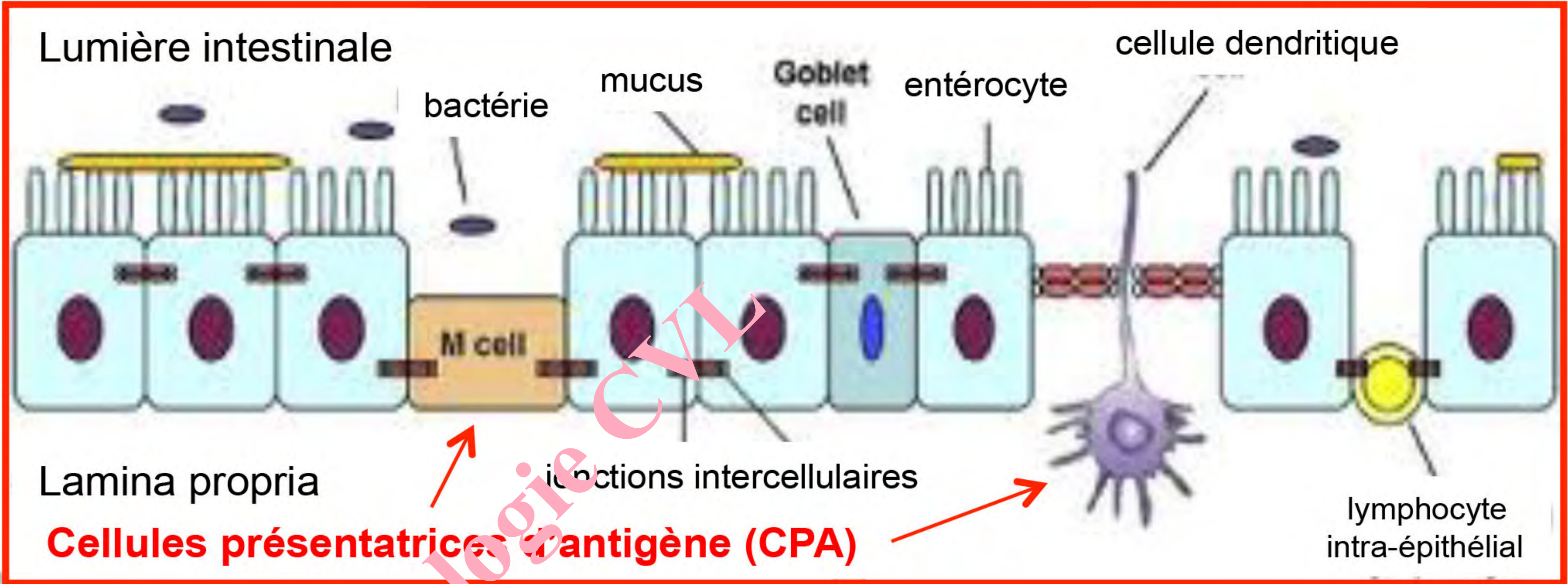


Konstantinopoulos et al, 2003

- lymphocytes
- cellules épithéliales



© 2003 Encyclopædia Britannica, Inc.

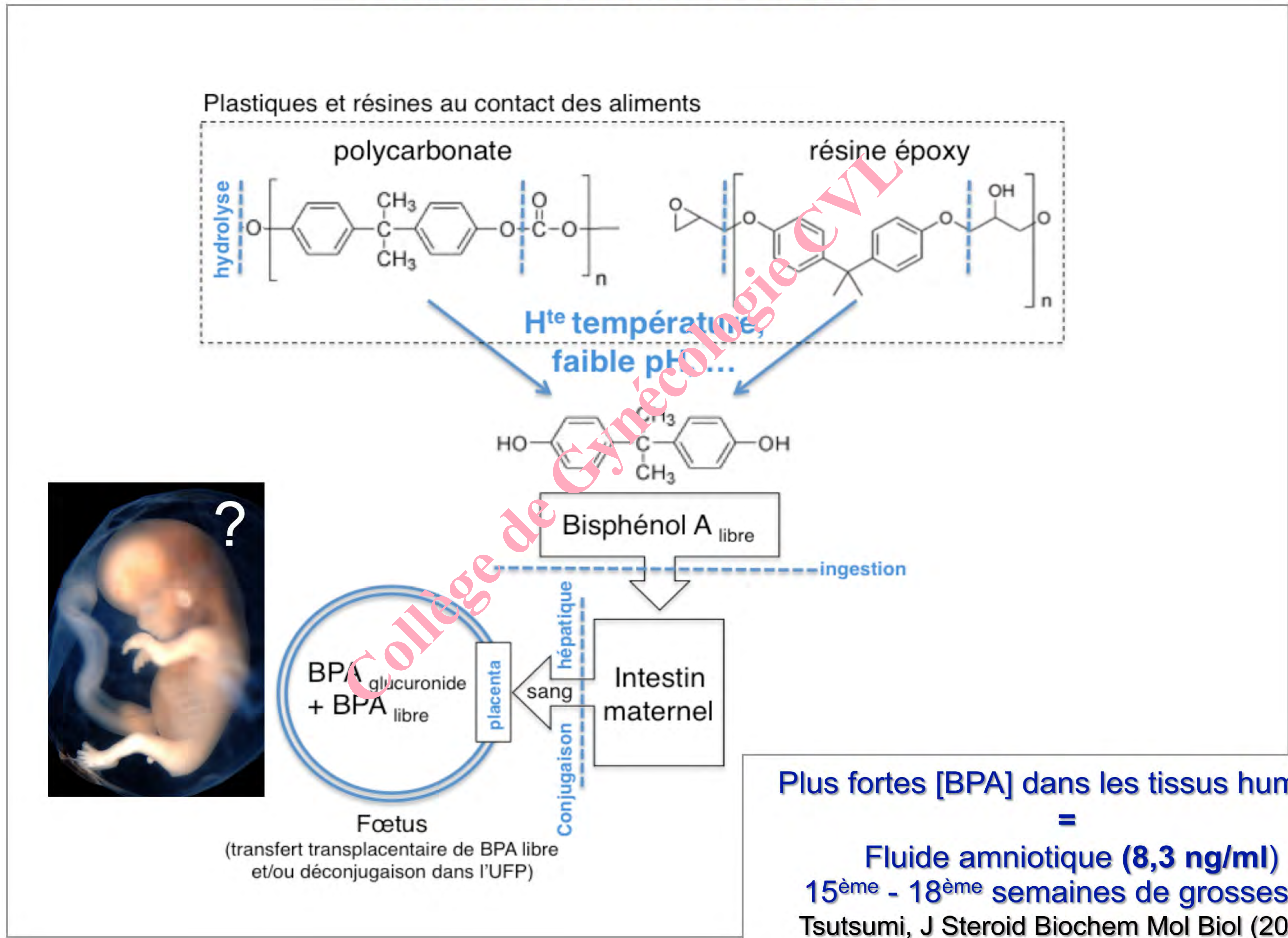


Plaques de Peyer (intestin grêle)

GALT Gut Associated Lymphoid Tissue

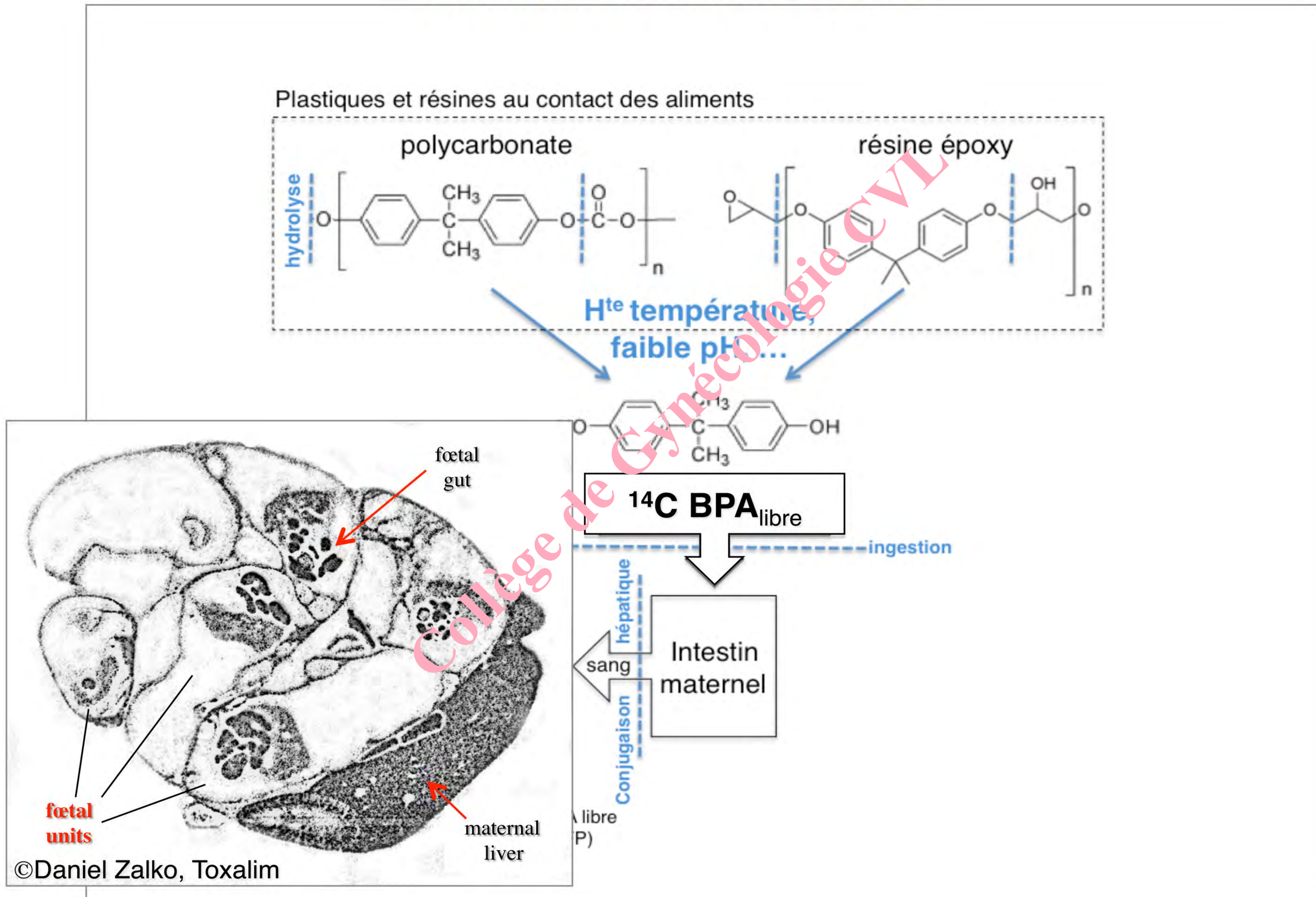
BPA : contamination orale maternelle

distribution dans le fœtus

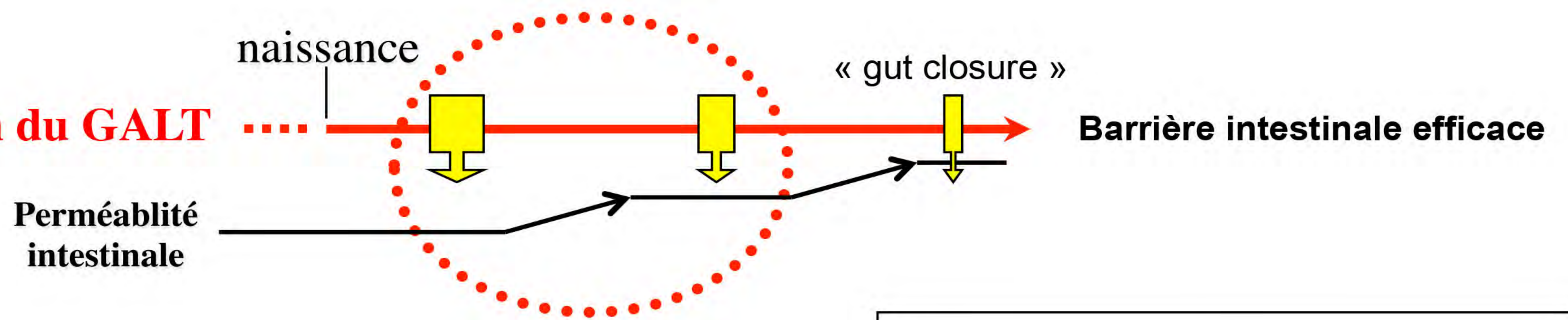


BPA : contamination orale maternelle

distribution dans le fœtus

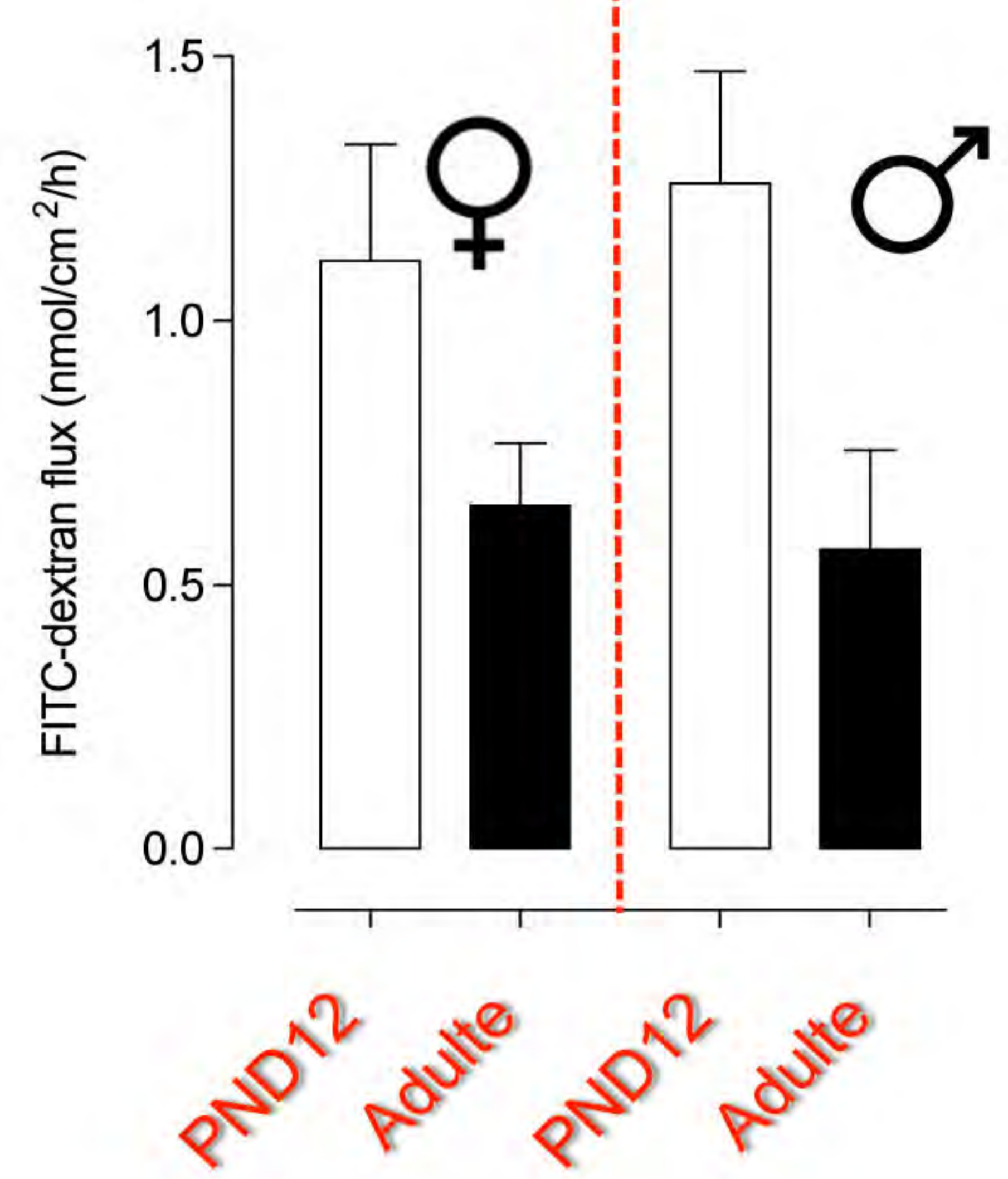


Maturation du GALT

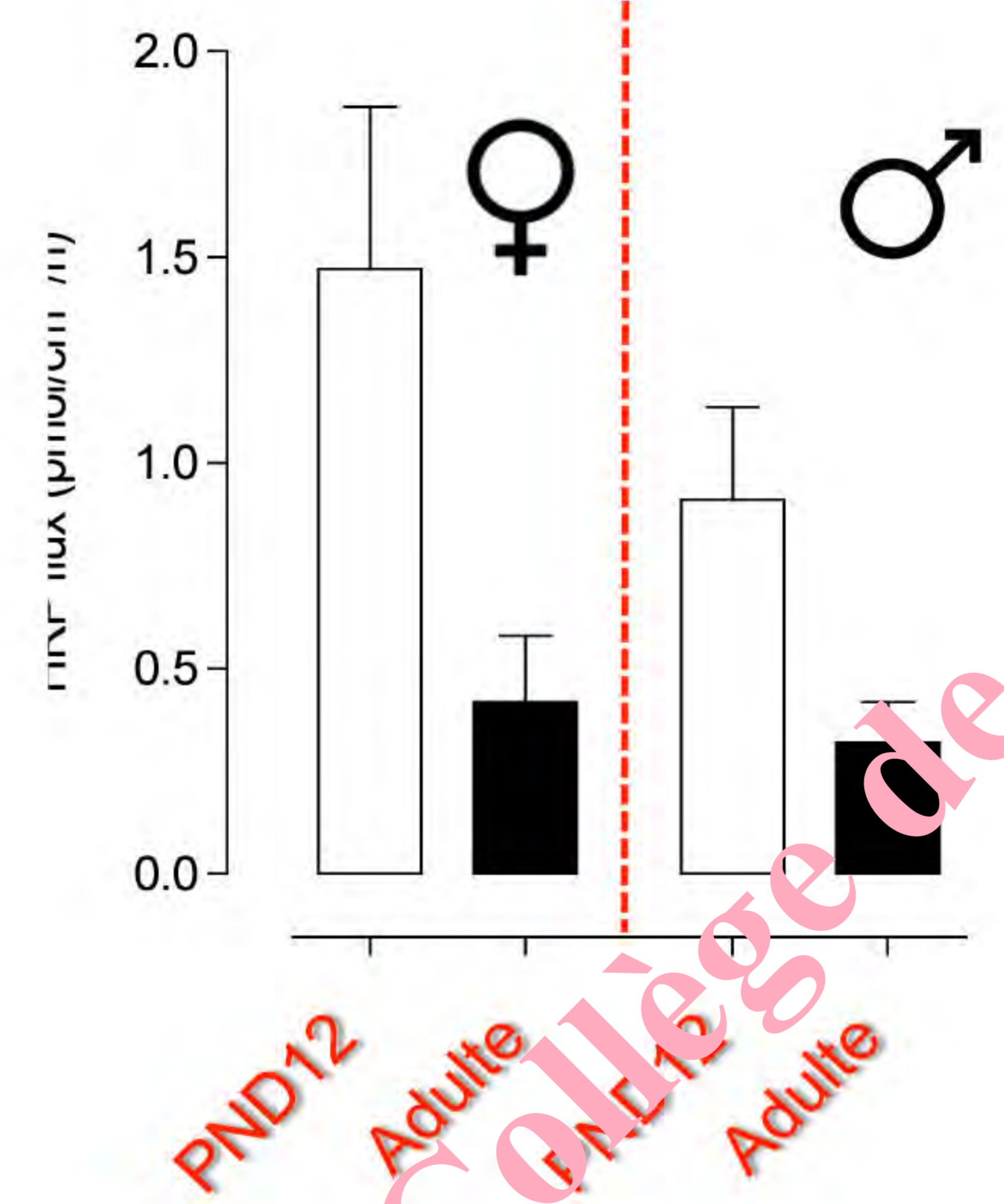


Colonisation bactérienne postnatale
(entre commensales et pathogènes)

1 Voie Para

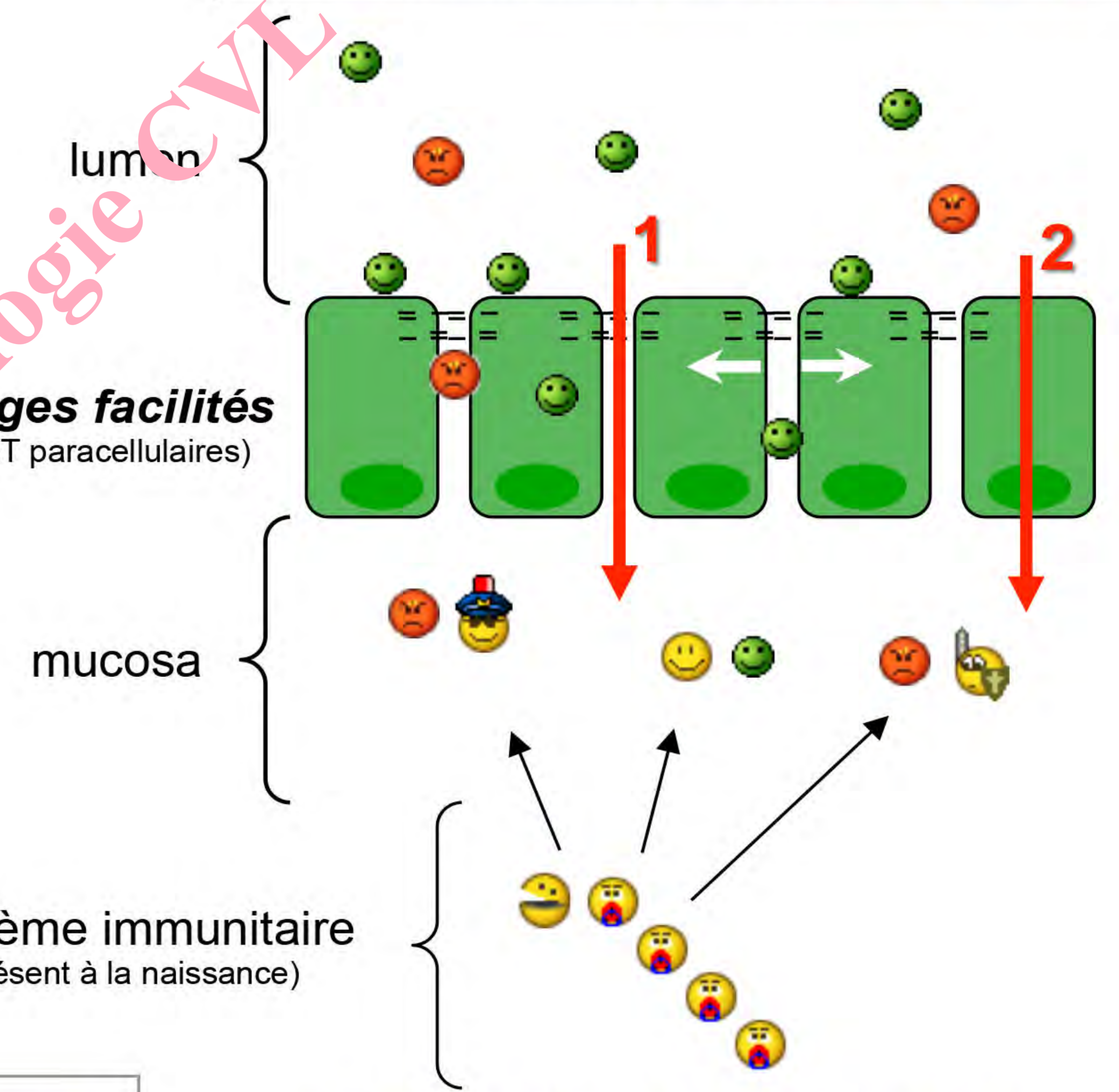


2 Voie Trans



Collège de Gynécologie CVL

Echanges facilités
(trans- ET paracellulaires)



Développement postnatal du système immunitaire dépendant de la perméabilité épithéliale
Wagner et al, Clinic Rev Allerg Immunol (2008)

Conditions normales

TOLÉRANCE IMMUNITAIRE & STIMULATION BACTÉRIENNE = BARRIÈRE INTESTINALE MATURE



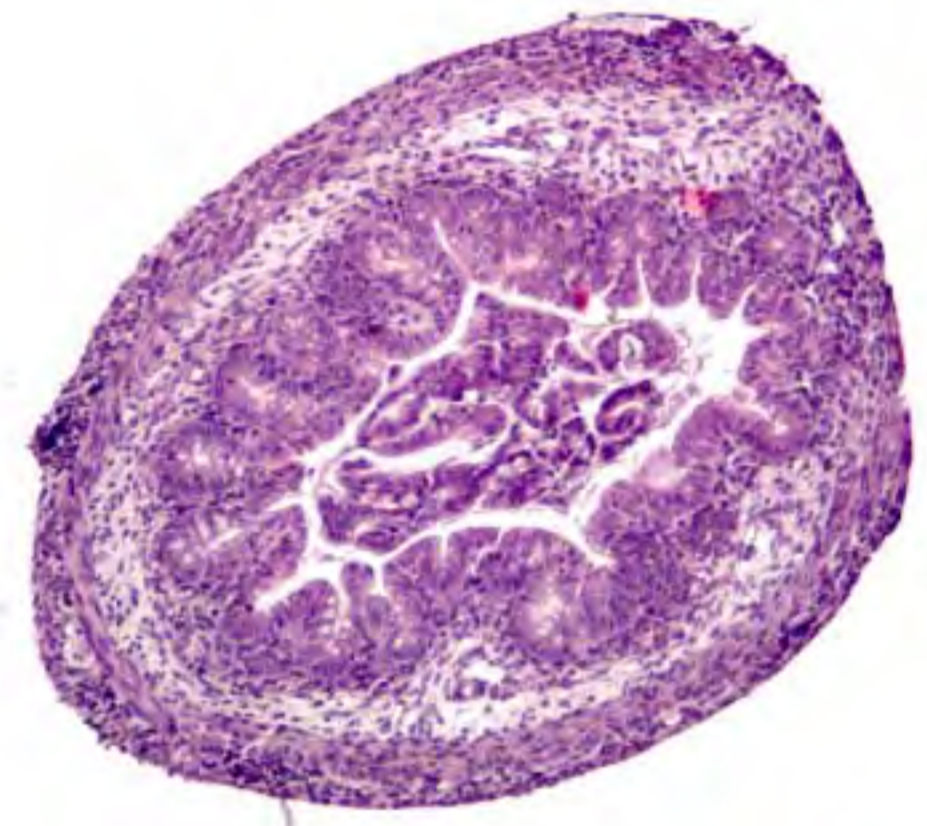
Oestrogènes, PEs et développement de l'intestin: effet « fenêtre »

-1day

BIRTH

Post Natal Day 10

ADULT

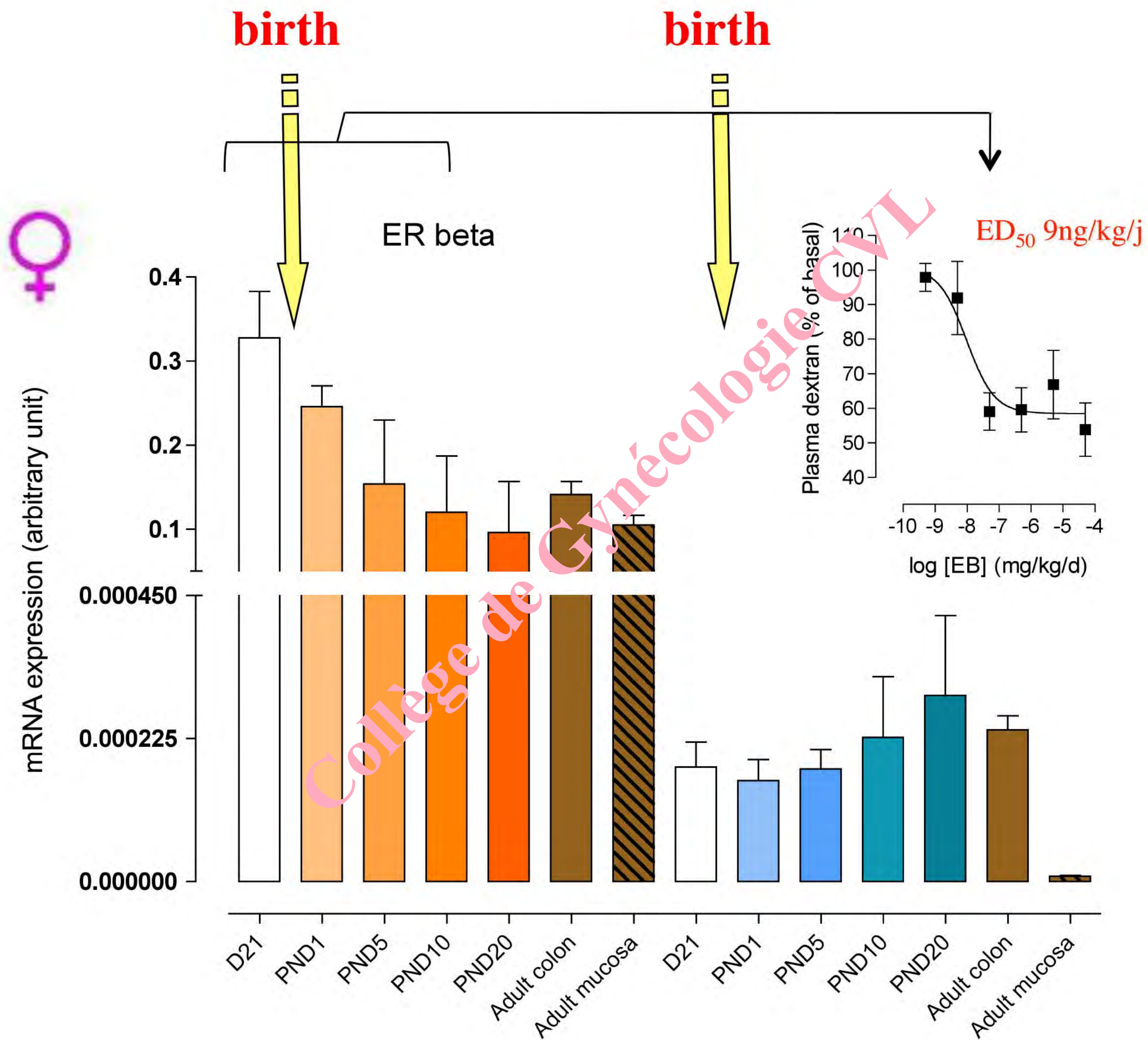


Collège de Gynécologie et Pédiatrie

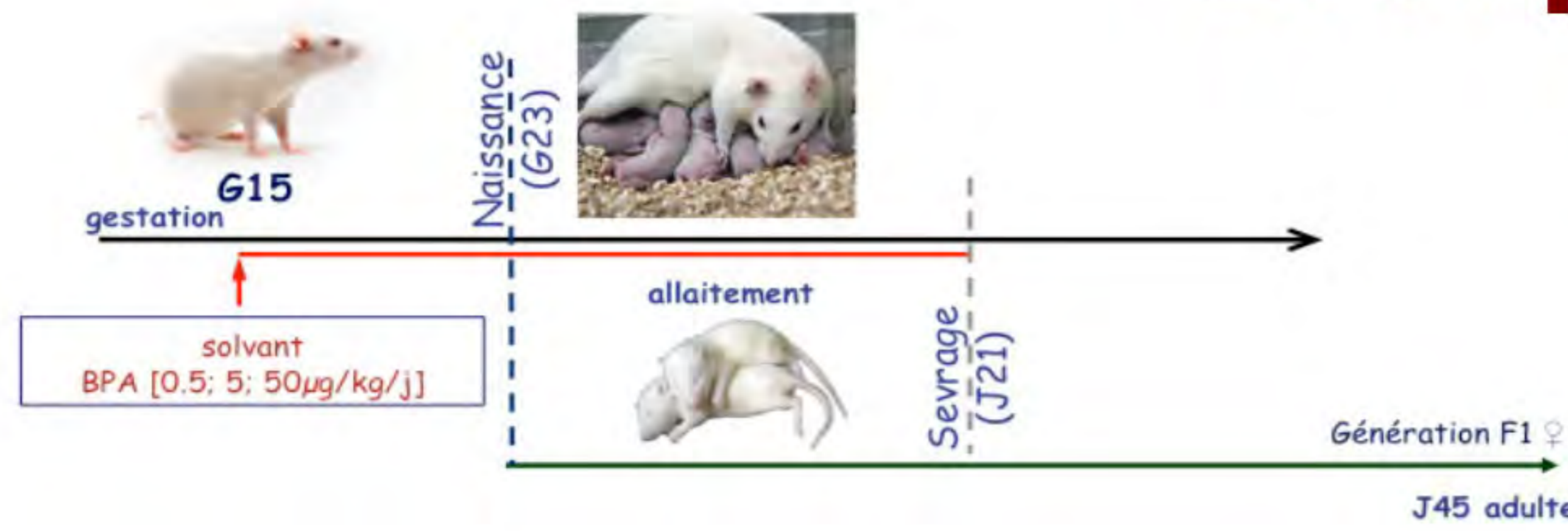
Hypersensitivity period

Growth

Récepteur aux oestrogènes: fortement exprimés à la naissance et fonctionnels



BPA périnatal, perméabilité intestinale et maturation du GALT (1) du nouveau-né à l'adulte F1



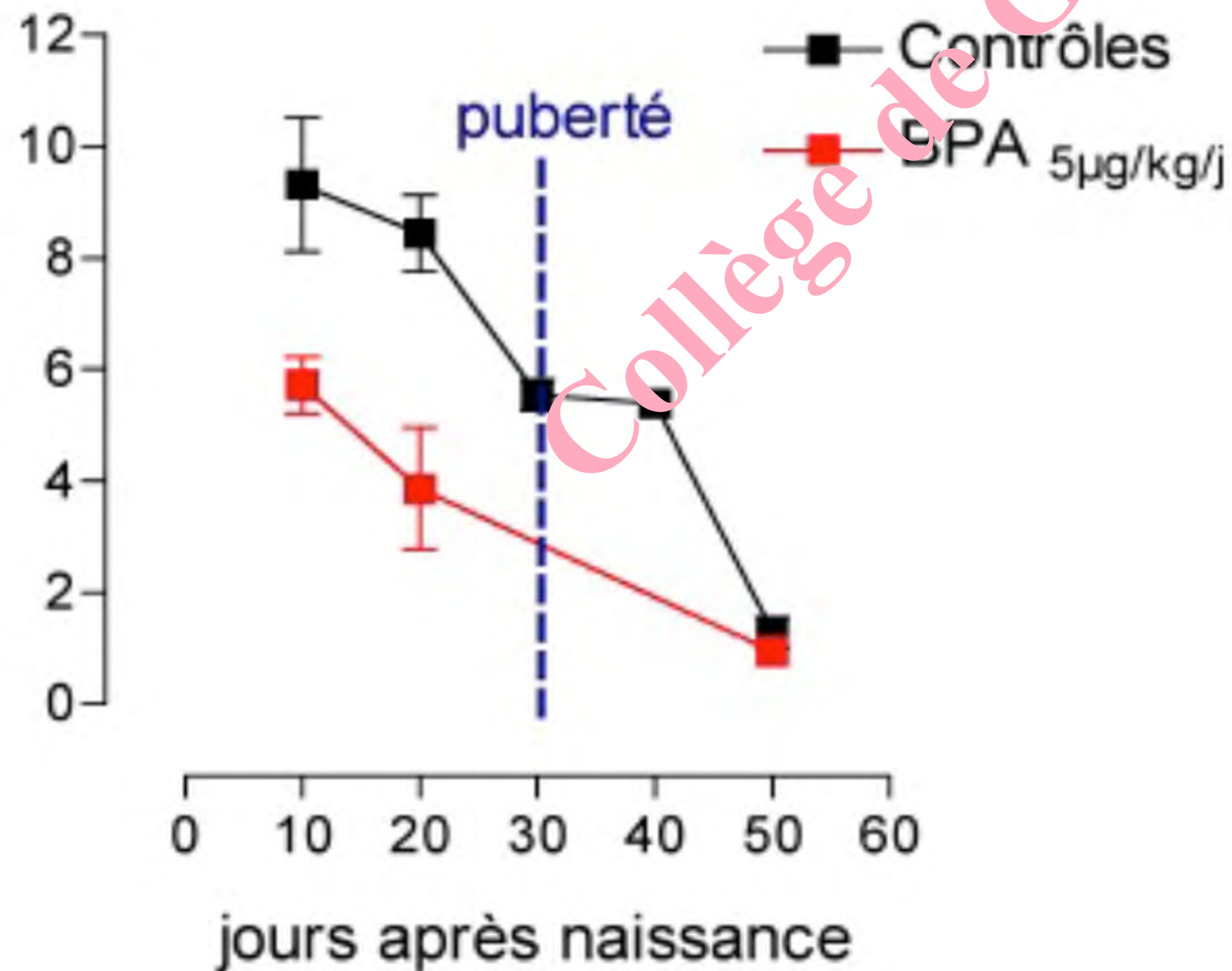
Expo périnatale & Perméabilité jéjunale chez l'adulte F1

BPA DJA > 5µg/kg/j > Expo orale en France (ANSES : 0.2-0.6µg/kg/j)

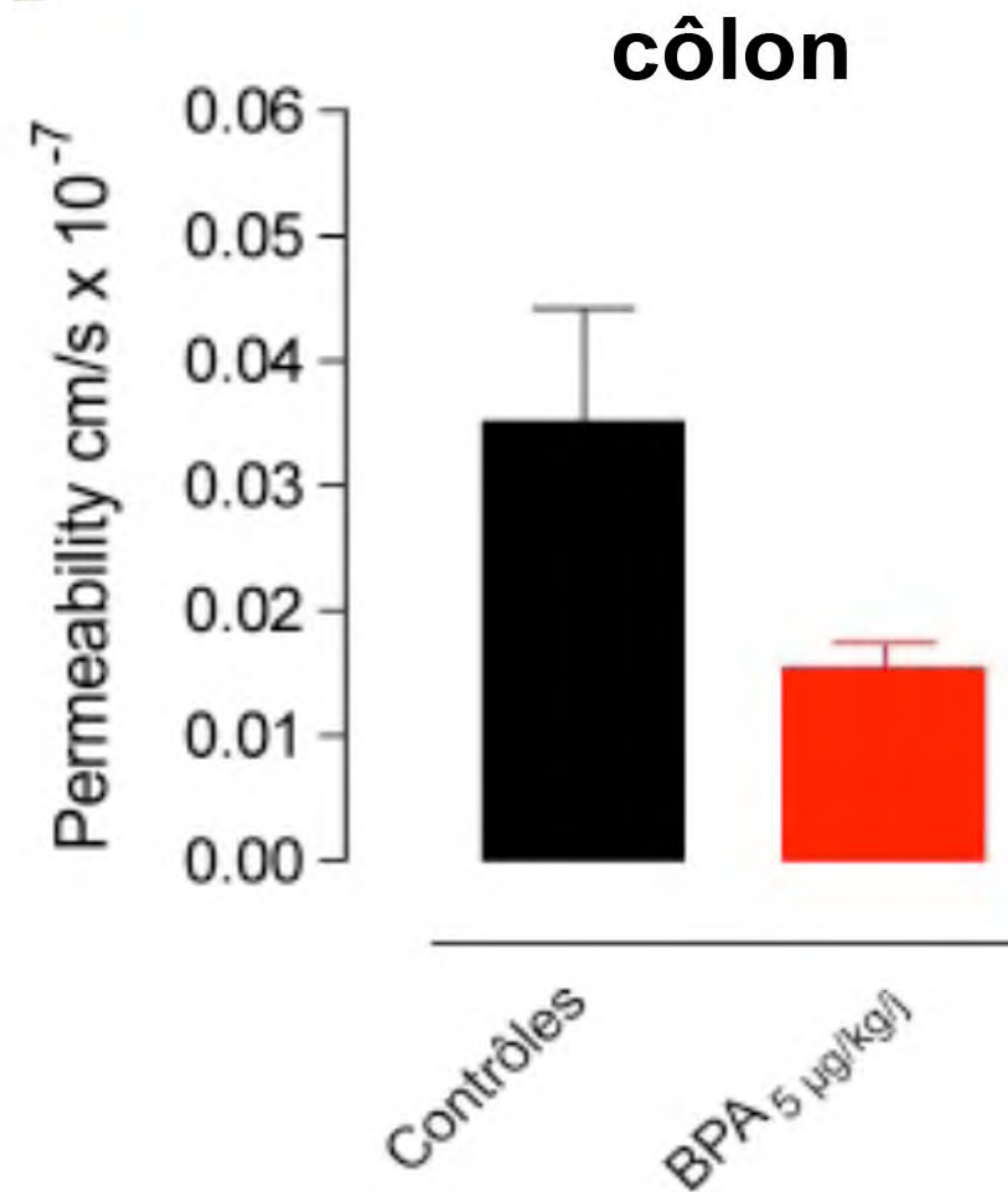


Paracellulaire (Dextran 4kD oral)

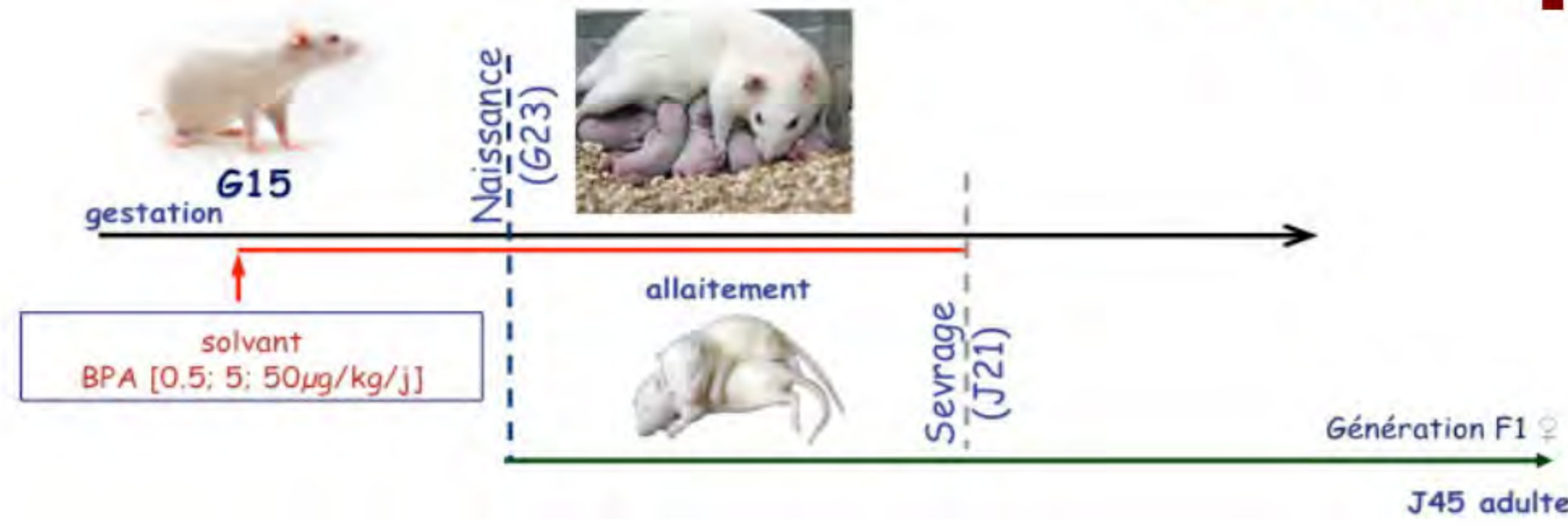
Perméabilité intestinale basale
(dextran µg/ml plasma)



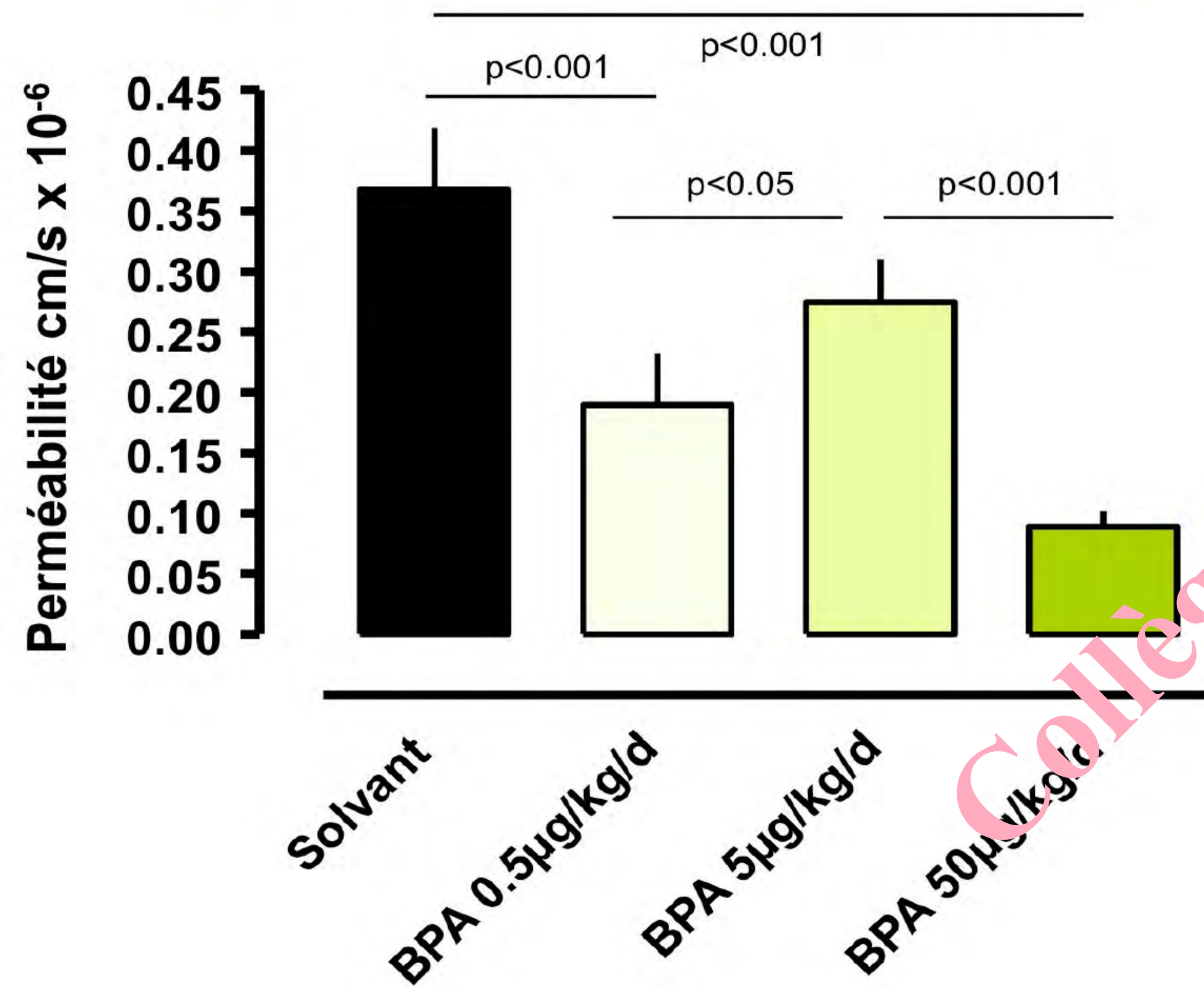
Transcellulaire (HRP 40kD Ussing)



BPA périnatal, perméabilité intestinale et maturation du GALT (2) du nouveau-né à l'adulte F1

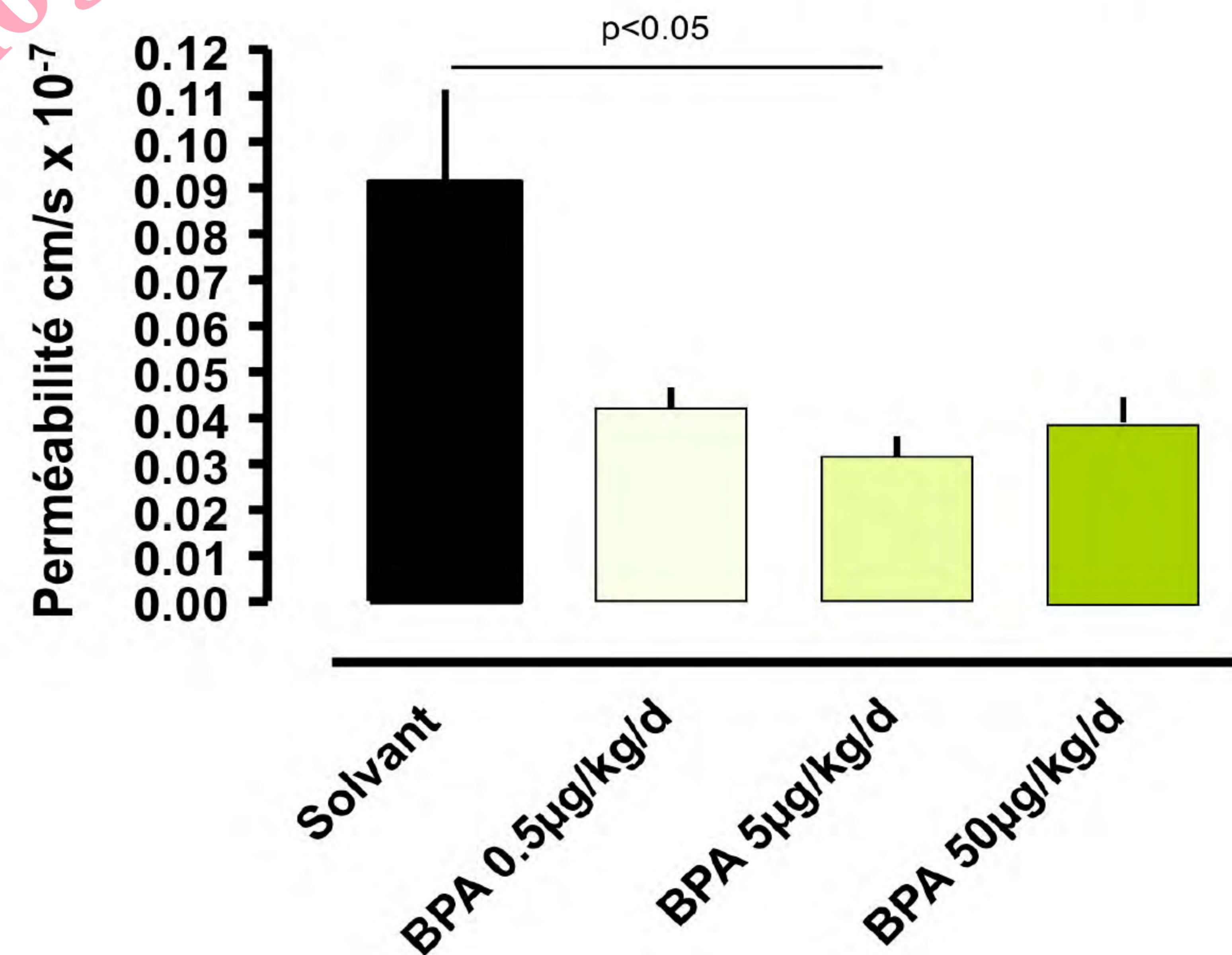


Perméabilité paracellulaire Dextran-FITC 4kDa (jéjunum)



➤ Diminution de la perméabilité paracellulaire (effet dose → courbe en cloche)

Perméabilité transcellulaire HRP 40kDa (jéjunum)



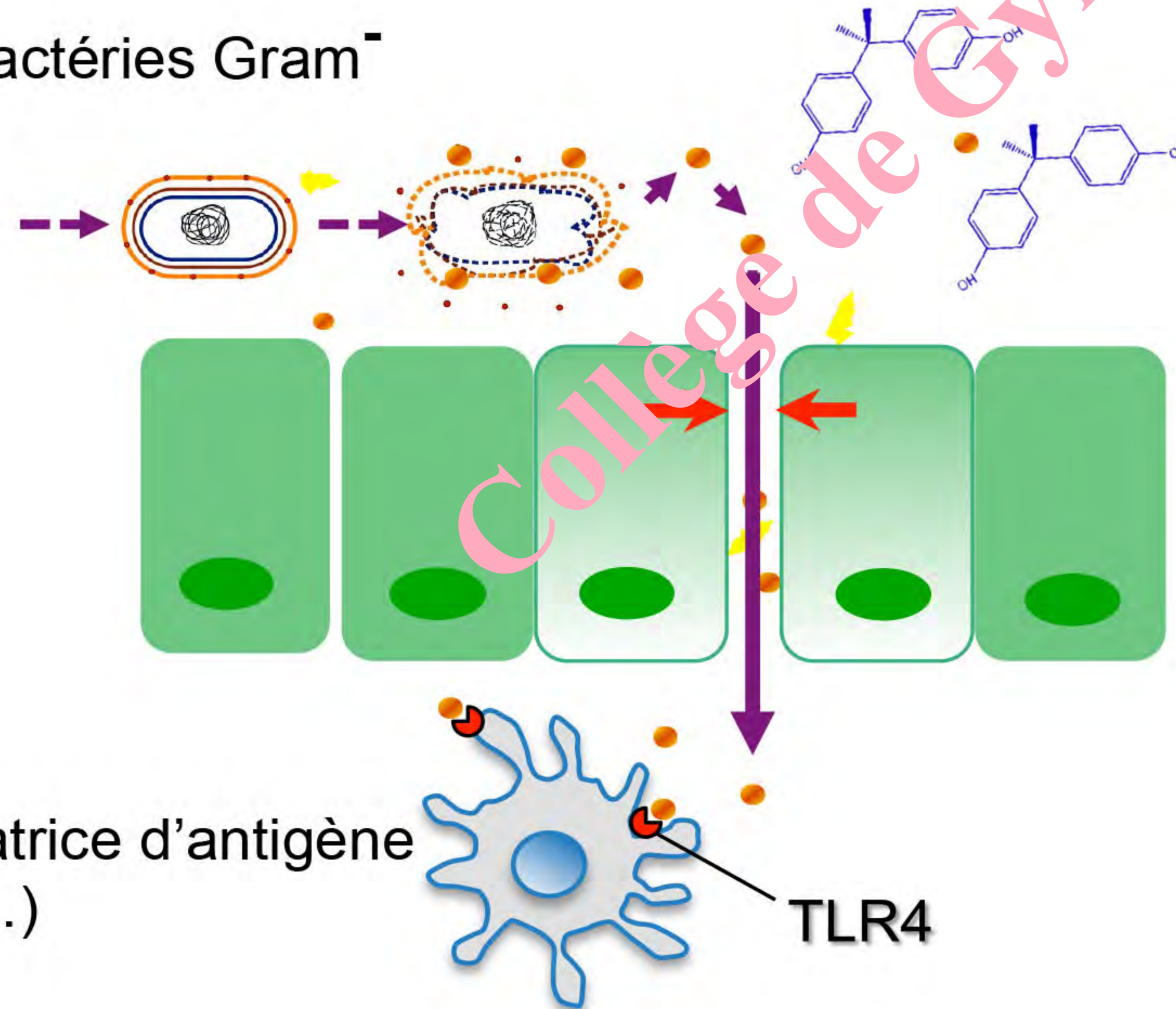
➤ Diminution de la perméabilité transcellulaire

BPA périnatal, perméabilité intestinale et maturation du GALT (3)

communication breakdown?

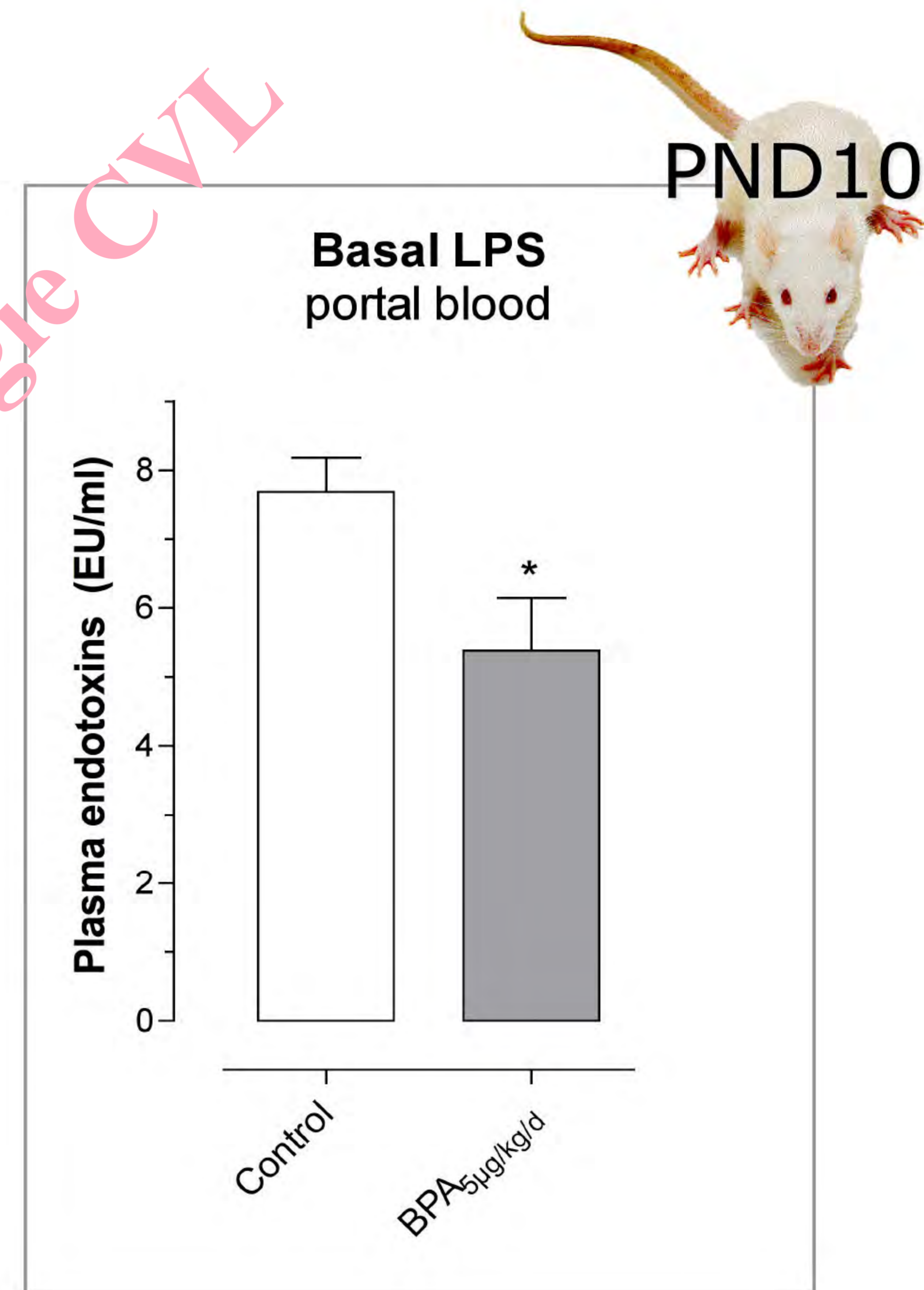
Une exposition périnatale au BPA $5\mu\text{g/kg/j}$ limite le passage de signatures bactériennes vers le GALT

Libération de LPS / bactéries Gram⁻



Cellule présentatrice d'antigène (dendritic cells...)

TLR4



BPA périnatal, perméabilité intestinale et maturation du GALT

Altération dans la mise en place de la tolérance orale?

PROTECTION DES DONNEES

Collège de Gynécologie CVL

Merci de votre attention



NGN

Viorica Braniste PhD+Postdoc
Sandrine Ménard
Nabila Moussaoui PhD
Afifa Aït-Belgnaoui
Eric Gaultier
Mathilde Levèque
Christel Cartier
Patrice Rouby
Jean Fioramonti
Vassilia Théodorou



MeX

Daniel Zalko
Marc Audebert
Jean-Pierre Cravedi



TIM

Pascal Martin
Laila Lakhal
Alice Marmugi PhD
Arnaud Polizzi

Toxalim
RESEARCH CENTRE IN FOOD TOXICOLOGY



AP AlimH - 2008



PNRA 2006 - Plastimpact
CES2010 - Perinatox

Collège de Gynécologie CV