

Séminaire de lancement
des projets de recherche financés par l'APR PNRPE 2010

DOSSIER DU PARTICIPANT

Mercredi
9 mai 2012

Grande Arche de la Défense
À partir de 9h00

PROGRAMME

9h00 OUVERTURE

9H10 **MOZAIC.** *Développement d'outils et de stratégies permettant d'améliorer l'évaluation des dangers et des risques des perturbateurs endocriniens.* Rémy Beaudouin. (projet 2010-028)

MIXEZ. *Effet d'un mélange de perturbateurs endocriniens sur le poisson zèbre.* Nathalie Hinfray (projet 2010-033), représentée par François Brion

DicoRisque. *Développement d'une boîte à outils pour l'analyse de l'incertitude et de la qualité de la connaissance, dans les évaluations des risques des perturbateurs endocriniens : application à l'étude de cas du Bisphenol-A.* Laura Maxim (projet 2010-030)

BAREPE. *Bénéfices sanitaires et économiques des Actions de Réduction d'Expositions aux Perturbateurs Endocriniens, le cas du chlordécone aux Antilles françaises.* Vincent Nedellec (projet 2010 029)

10h30 PAUSE

11h00 **NUREMIR.** *Les miRNAs comme biomarqueurs dans un modèle d'hypospermatogénèse induite par une exposition à des perturbateurs endocriniens environnementaux.* Patrick Balaguer (projet 2010-027)

METHYL-ED. *Impact des Perturbateurs Endocriniens sur les profils de méthylation de l'ADN dans la lignée germinale.* Michaël WEBER (projet 2010-072)

METAPOP. *METAPOP. Perturbateurs endocriniens persistants du tissu adipeux et métastases.* Xavier Coumoul (projet 2010-031)

ECOS-habitat. *Expositions Cumulées aux composés organiques semi-volatils dans l'habitat : contamination des logements en substances perturbatrices endocriniennes.* Barbara Lebot (projet 2010-032)

MELBA. *Obesity-linked metabolic disturbances in mice exposed to low doses of bisphenol A or its substitute bisphenol S: multi-organs study - Role of the nuclear receptor ERRA.* Marie-Christine Chagnon (projet 2010-65)

12h40 CLÔTURE

SOMMAIRE

2010-28 – MOZAIC - Développement d'outils et de stratégies permettant d'améliorer l'évaluation des dangers et des risques des perturbateurs endocriniens	4
2010-033 – MIXEZ - Effet d'un mélange de perturbateurs endocriniens sur le poisson zèbre	6
2010-030 – DicoRisque - Développement d'une boîte à outils pour l'analyse de l'incertitude et de la qualité de la connaissance, dans les évaluations des risques des perturbateurs endocriniens : application à l'étude de cas du Bisphenol-A	8
2010-029 - BAREPE - Bénéfices sanitaires et économiques des Actions de Réduction d'Expositions aux Perturbateurs Endocriniens, le cas du chlordécone aux Antilles françaises	10
2010-027 - NUREMIR - Les miRNAs comme biomarqueurs dans un modèle d'hypospermatogénèse induite par une exposition à des perturbateurs endocriniens environnementaux	12
2010-072 – METHYL-ED - Impact des Perturbateurs Endocriniens sur les profils de méthylation de l'ADN dans la lignée germinale	14
2010-031 – METAPOPOP - Perturbateurs endocriniens persistants du tissu adipeux et métastases	16
2010-032 - ECOS-Habitat - Expositions Cumulées aux composés organiques semi-volatils dans l'habitat : contamination des logements en substances perturbatrices endocriniennes	18
2010-065 – MELBA - Obesity-linked metabolic disturbances in mice exposed to low doses of bisphenol A or its substitute bisphenol S: multi-organs study - Role of the nuclear receptor ERRα	20

2010-28 – MOZAIC - Développement d'outils et de stratégies permettant d'améliorer l'évaluation des dangers et des risques des perturbateurs endocriniens

Rémy Beaudouin
INERIS, Verneuil en Halatte

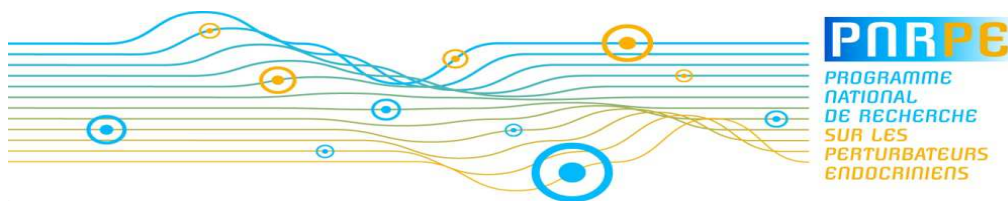
Résumé :

Certains composés chimiques possèdent la capacité de perturber le système endocrinien, entraînant des dysfonctionnements de la reproduction et du développement, des taux anormaux d'hormones stéroïdes circulantes ou des phénomènes d'imposex. Les effets nocifs éventuels sur l'humain et la faune (en particulier les poissons) de ces composés perturbateurs endocriniens (PEs) font l'objet d'une préoccupation croissante. Parmi les espèces modèles utilisées en écotoxicologie, le poisson zèbre est un vertébré fortement utilisé et, en particulier, de plus en plus de données sur la toxicité des PEs chez ce poisson ont été produites ces dernières années. La traduction des déficits fonctionnels chez les individus en effets au niveau des populations est un grand défi pour l'évaluation des risques écologiques des PEs.

Les modèles mathématiques fournissent des outils adaptés pour intégrer différentes échelles biologiques, différents types d'observations et les relations entre ces variables. Ainsi, le but du projet MOZAIC est de proposer un modèle pour le poisson zèbre pour évaluer les modifications hormonales dues aux PEs chez les individus (en prenant en compte les régulations dans le modèle) et leurs incidences sur les performances des individus et la dynamique des populations.

À cette fin, nous proposons de développer et d'intégrer trois modèles: (i) un modèle de l'axe hypothalamus-hypophyse-gonades (HHG) pour le poisson zèbre mâle et femelle, (ii) un modèle pharmacocinétique à fondement physiologique (PBPK) générique pour les perturbateurs endocriniens, et (iii) un modèle multi-agent pour simuler la dynamique des populations de poisson zèbre et sa perturbation due à l'exposition aux PEs. Ce dernier modèle comprendra des modèles doses-réponses reliant les concentrations d'hormones aux effets sur la reproduction. La calibration des modèles sera effectuée à partir de données disponibles dans la littérature, de nouveaux modèles QSAR et de la production de nouvelles données expérimentales, pour combler deux lacunes dans les données disponibles : la variation physiologique pendant le cycle de reproduction des concentrations des stéroïdes sexuels chez les femelles n'est pas caractérisée et il y a un manque de données sur les concentrations de ces hormones chez les poissons exposés au 17β -oestradiol. Par conséquent, nous prévoyons de produire de nouvelles données relatives à ces deux lacunes.

In fine, le projet MOZAIC fournira un modèle générique (*i.e.* pas limité à une seule molécule) reliant les effets des perturbateurs endocriniens au niveau biologique d'organisation de la cellule, de l'organisme et de la population. Ce modèle pourra être appliqué à différents PEs pour évaluer les conséquences à long terme d'une perturbation du système endocrinien.



Certain chemicals possess the ability of modulating the endocrine systems, associated with reproductive and developmental dysfunctions, abnormal levels of circulating steroids hormones or imposex phenomena. There have been increasing concerns regarding these endocrine disruptor compounds (EDCs) and their potential harmful effects on humans and wildlife, including fish. Among model species for ecotoxicological investigations, zebrafish is a vertebrate organism extensively used for scientific purposes and an increasing amount of toxicological data of EDCs toward zebrafish have been gathered during the past years. The translation of subtle functional deficits within individuals into population-level effects is the greatest challenge for the risk assessment of EDCs relative to fish.

Mathematical models can provide the framework in which the effects on many endpoints and the cross regulations between these endpoints can be integrated.

Hence, the aim of MOZAIC project is to propose an integrated modelling framework for zebrafish to assess how EDCs modify the level of hormones in individuals (with inclusion of regulations in the model) and how such disruption will impact individual fitness and population dynamics. To this purpose, we propose to develop and to integrate three models: (i) hypothalamic-pituitary-gonadal (HPG) axis model for male and female zebrafish, (ii) Physiologically-based pharmacokinetic (PBPK) models for zebrafish for a panel of EDCs, and (iii) an agent-based model for a relevant description of zebrafish population dynamics and of its perturbation due to exposure to EDCs. This last model will include relevant dose responses relating hormones levels to effects on reproduction in zebrafish.

The calibration of the models will be based on available data in the literature, on new QSAR models and on new experimental data in response to two main gaps that we identified in the available data in the literature: physiological variation sex steroid concentrations in relation to the reproductive cycles for females is not characterized and there is a lack of data on concentration of sex steroid concentrations in fish exposed to 17 β -oestradiol. Hence, we plan to produce new data relative to these two gaps.

In fine, MOZAIC project will provide an integrated generic (i.e. not restricted to a single chemical) model linking the effects of EDCs at cellular, organism and population levels. This model could be applied to different endocrine compounds to assess long-term consequences of an endocrine disruption.

Mots clefs :

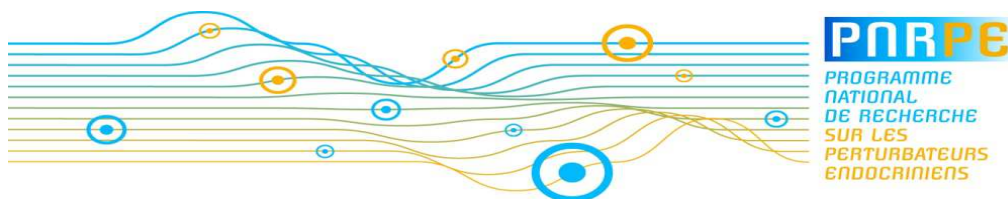
Poisson zèbre, Axe hypothalamo-hypophysio-gonadique, Population, QSAR, Modèles pharmacocinétiques à fondement physiologique, Modèle multi-agent

Durée : 36 mois

Organismes partenaires :

Centre de traitement de l'information scientifique (CTIS), 3 Chemin de la Gravière, 69140 Rillieux la Pape

Institut National de l'Environnement Industriel et des Risques (INERIS), Direction des Risques Chroniques, Pôle VIVA, Unité d'écotoxicologie in vitro et in vivo



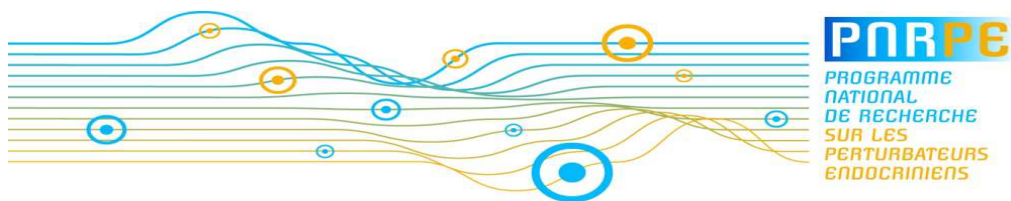
2010-033 – MIXEZ – Effet d'un mélange de perturbateurs endocriniens sur le poisson zèbre

Nathalie Hinfrey (représenté par François Brion)
INERIS

Résumé :

Les perturbateurs endocriniens (PE) sont des polluants largement présents dans l'environnement aquatique. Leurs effets sur la reproduction ont stimulé le développement et la mise en œuvre de tests d'évaluation des PE. Cependant, les tests *in vitro* et *in vivo* développés ont jusqu'à présent été utilisés pour évaluer les effets des molécules seules, bien que dans la réalité, les organismes soient rarement exposés à des composés seuls mais plutôt à des mélanges complexes de molécules. A l'heure actuelle, les études concernant les effets des mélanges de PE se sont principalement intéressées aux effets additifs des composés et notamment ceux mimant le 17 β -oestradiol. Toutefois, plusieurs manques ont pu être identifiés dans l'ensemble de ces études : seul un nombre limité de composés et de mélanges ont été testés, la plupart des essais existant sont basés sur une réponse ER α dépendante, au niveau moléculaire les études *in vivo* ne se sont intéressées qu'à la production de vitellogénine par le foie, et les effets de molécules activant le ER de manière ligand-indépendante n'ont pas été explorés. Le but de notre projet est donc d'acquérir des connaissances sur les effets *in vitro* et *in vivo* de mélanges de composés oestrogéniques (ligands du ER, activateurs du ER ligandindépendants, oestrogènes « indirectes », androgènes aromatisables) chez le poisson en utilisant des outils spécifiques du poisson zèbre. Ces outils spécifiques (bioessais gène rapporteur stable, poisson zèbre transgénique cyp19a1b-GFP) permettront d'adresser de nouveaux aspects des mélanges oestrogéniques, notamment en étudiant les effets des mélanges sur des mécanismes ER β - dépendants, en utilisant un modèle *in vivo* de screening dans un contexte neuro-glial (poissons zèbres transgéniques), et en utilisant des mélanges de composés oestrogéniques ayant des modes d'actions différents et peu étudiés.

Endocrine disruptors (EDCs) are widespread aquatic environment contaminants. Concern about their effects to reproductive health has stimulated the development and implementation of screening and testing procedures for EDCs. However, the in vitro and in vivo assays developed are often used to assess the effect of a single compound although in reality, organisms are rarely exposed to a single compound but rather to complex mixtures of compounds. To date, studies on EDCs mixtures have mainly focused on the potential additive effects of EDCs, especially chemicals that mimic 17- β -estradiol responses. However, in all these studies, several gaps have been identified: only a limited range of compounds and mixtures has been tested, most in vitro and in vivo assays used to assess mixtures effects are ER α based bioassays, in vivo all research addressed mixtures effect on vitellogenin expression by the liver, and effect of ligand ER-independent activators has not been explored. The aim of our project is to acquire knowledge on the in vitro and in vivo effects of estrogenic mixtures (ligands of ER, ligand independent ER activators, indirect estrogens, aromatizable androgens) in fish by using specific bioassays developed for the zebrafish. Specific zebrafish tools (stable reporter gene assays in zebrafish cells and cyp19a1b-GFP transgenic zebrafish) will be used in this project to address novel aspects of the effects of estrogenic compounds mixtures, notably by addressing mixtures effects towards ER β s, by using an in vivo bioassay allowing



measurement of an ER-regulated gene in the brain context, and by using mixtures of estrogenic EDCs with different modes of action that are still poorly studied.

Mots clefs :

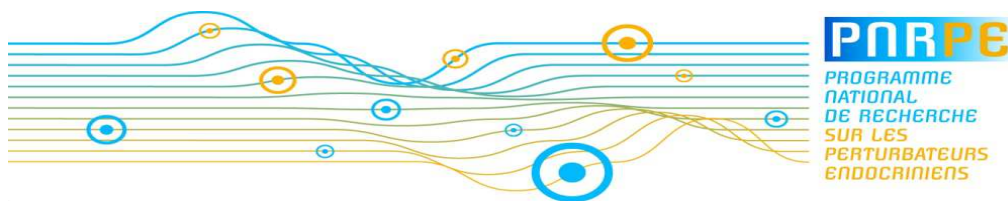
poisson zèbre, oestrogènes, androgènes, mélanges, modèle prédictif

Durée : 36 mois

Organisme partenaire :

Centre National de la Recherche Scientifique (CNRS), UMR CNRS 6026 - Université de Rennes 1

Laboratoire d'Endocrinologie Moléculaire de la Reproduction, Rennes



2010-030 – DicoRisque - Développement d'une boîte à outils pour l'analyse de l'incertitude et de la qualité de la connaissance, dans les évaluations des risques des perturbateurs endocriniens : application à l'étude de cas du Bisphenol-A

Laura Maxim

Institut des Sciences de la Communication du CNRS, Paris

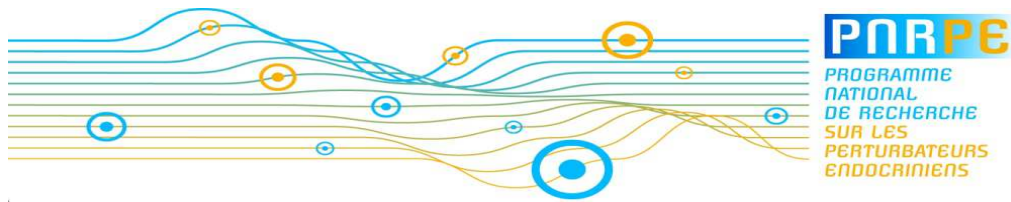
Résumé :

Le présent projet a comme objectif le développement d'une boîte à outils pour l'analyse de l'incertitude associée à l'évaluation du risque des perturbateurs endocriniens. La faisabilité de ces outils sera démontrée par leur application à une étude de cas concrète, celle de l'évaluation du risque du Bisphenol A. Ce choix s'inscrit dans le contexte d'un travail en cours sur la présence de perturbateurs endocriniens dans les produits destinés au grand public, à la demande du Ministère de la Santé, par l'ANSES (Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail), partenaire associé au présent projet. Dans le cadre de cette saisine, il est apparu que la caractérisation des incertitudes était un enjeu majeur dans un sujet de controverse, à la fois dans la communauté scientifique et par les parties prenantes. Un groupe « Incertitude et société » a été nommé dans ce contexte.

Nous proposons le développement et le test sur l'étude de cas du Bisphenol A d'un ensemble d'outils de caractérisation qualitative et quantitative de l'incertitude, en mobilisant à la fois les méthodes d'évaluation par les experts que des méthodes qui exploitent des outils de traitement automatique des langues. La finalité de ces développements théoriques est essentiellement pratique, car ces outils pourraient être utilisés par la suite pour impliquer la communauté académique et les parties prenantes dans l'évaluation des incertitudes par les agences sanitaires, et pour assurer la transparence vis-à-vis des décideurs, relatif au contenu des rapports d'évaluation des risques chimiques.

This project has the objective of developing a toolkit for uncertainty analysis in endocrine disrupters risk assessment. The feasibility of these tools will be demonstrated through their application to the case study of bisphenol A. This choice is motivated by ongoing work of ANSES (the French Agency for Food, Environmental and Occupational Health Safety) on the presence of endocrine disrupters in products available to the public, following demand from the Ministry of Health. During this work, the importance of characterizing uncertainties has been highlighted. Uncertainty characterization is subject to controversies, involving both scientists and stakeholders. A group called "Uncertainty and society" has been formed for addressing this issue.

We propose the development and the test on bisphenol A of several tools for qualitative and quantitative uncertainty analysis, using methods involving expert elicitation and methods exploiting tools for the automatic treatment of language. These theoretical developments will be usable in operational situations, for involving academic scientists and stakeholders in uncertainty analysis by health and environmental agencies, and for providing transparency to policy-makers on the content of chemical risk assessment reports.



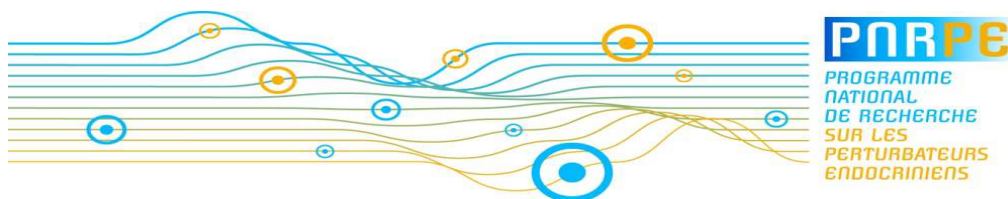
Mots clefs :

Evaluation de l'incertitude, évaluation de la qualité de la connaissance, expertise, controverse, évaluation réglementaire du risque, règlement REACH, traitement automatique de langues

Durée : 36 mois

Organismes partenaires :

SCC (Institut des Sciences de la Communication du CNRS), UPS 3088
STL (Savoirs, Textes, Langage), UMR 8163, CNRS et Université Lille 1 & 3
Unité Met@risk (Méthodologies d'analyse de risque alimentaire), INRA
Utrecht University, Faculty of Science, Copernicus Institute, Department of Science
Technology and Society
University of California San Diego



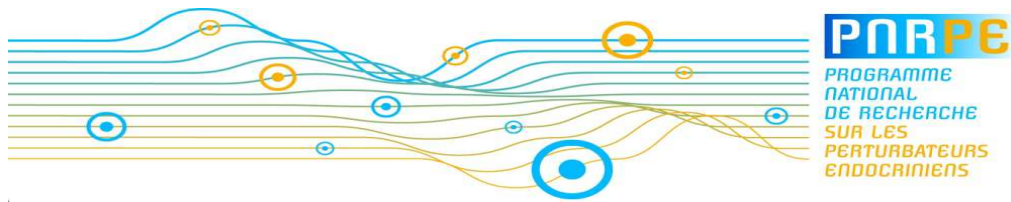
2010-029 - BAREPE - Bénéfices sanitaires et économiques des Actions de Réduction d'Expositions aux Perturbateurs Endocriniens, le cas du chlordécone aux Antilles françaises

William Dab
CNAM, Paris

Résumé :

Les effets néfastes des perturbations endocriniennes (PE) engendrés par les produits chimiques sont nombreux (reproduction, développement, métabolisme énergétique, système nerveux, cancer hormonaux dépendants, etc.) et difficiles à hiérarchiser entre eux et par rapport à d'autres. Pour bien situer les enjeux sanitaires et économiques, il faut pouvoir évaluer quantitativement les impacts. Actuellement, les approches réglementaires européennes comme nord-américaines sont restées qualitatives. Les objectifs du projet sont de développer des méthodes pour une évaluation quantitative des impacts sanitaires. Les innovations portent : i) sur la construction de fonction dose réponse (FDR) estimant la probabilité d'effet néfaste quel que soit le niveau d'exposition, ii) sur l'évaluation des coûts monétaires associés à ces impacts. Les FDR seront dérivées d'études épidémiologiques ou toxicologiques. Elles concerneront tous les effets néfastes pour pouvoir les comparer. Le cas du chlordécone aux Antilles permettra de tester ces méthodes. De nombreuses données sont disponibles et exploitables. Avec environ 4 % des enfants surexposés (> VTR de l'ANSeS), une rémanence dans le sol très longue et sans perspectives actuelle de dépollution, le chlordécone pose un problème de santé publique. La DGS, coordonnatrice du plan d'action chlordécone, bénéficiera ainsi d'un outil de pilotage basé sur l'efficacité sanitaire et la rentabilité économique. La méthode pourra ultérieurement s'appliquer à d'autre PE, rendant possible l'évaluation sanitaire et économique pour situer les enjeux par rapport à d'autres problématiques environnementales. Disposer de FDR pour plusieurs effets d'un même PE permettra aussi d'évaluer les mélanges complexes contrairement à l'approche à seuil pour un effet critique.

Toxicological effects of the endocrine disruptors (ED) generated by chemicals are numerous (reproduction, development, energetic metabolism, nervous system, hormonal cancer, etc.) and difficult to rank among themselves and with regard to others. To assess the health and economic stakes, it is necessary to be able to estimate quantitatively the response. Until now, the European and North American statutory approaches have remained qualitative. The objectives of the project are to develop methods for a quantitative evaluation of the sanitary impacts and costs. The innovations are: i) construction of dose response functions (DRF) giving the probability of effect for any level of exposure, ii) evaluation of the monetary costs associated to these responses. The DRF will be modelled from epidemiological or toxicological studies. They will concern all the adverse effects to be able to compare them. The case of chlordecone in French Antilles will allow to test these methods. Numerous data are available and exploitable. With approximately 4 % of the children overexposed (> RfD), a very long half-live in the soil without current perspectives of abatement, chlordecone raises a problem of public health. The DGS, coordinator of the national action plan against chlordecone, will therefore benefit from an evaluation tool based on health and economic efficiencies. The method can later be applied also to other ED, making it possible to rank the stakes with regard to the other environmental problems. Having DRFs for several effects of same ED will also



allow to assess complex mixtures, by contrast to the threshold approach for a single critical effect.

Mots clefs :

Perturbateur endocrinien, chlordécone, reproduction, prématurité, développement, métabolisme énergétique, fonction dose réponse, monétarisation, QALY, DALY

Durée : 36 mois

Organismes partenaires :

Robert Barouki, Unité UMR-S 747 Inserm-Université Paris Descartes

Ari Rabl, Ari Rabl Consultant

2010-027 - NUREMIR - Les miRNAs comme biomarqueurs dans un modèle d'hypospermatogénèse induite par une exposition à des perturbateurs endocriniens environnementaux.

Patrick Balaguer
Institut de Recherche en Cancérologie de Montpellier

Résumé :

Les objectifs de ce projet consistent à générer des biomarqueurs des effets des perturbateurs endocriniens (Pes) affectant la fertilité masculine. Pour atteindre ces objectifs, nous prévoyons de :

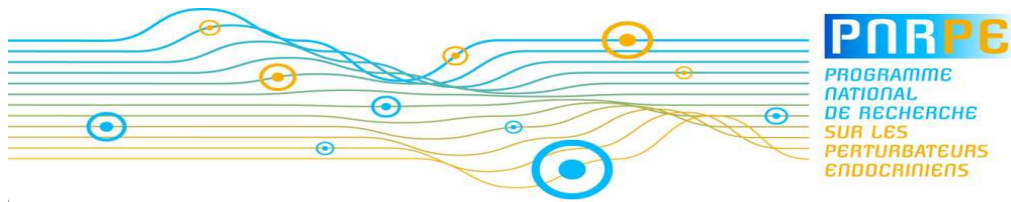
(1) générer des modèles expérimentaux animaux exposés à 3 Pes (vinclozoline, bisphénol A et MEHP) à des doses faibles (LOAEL, NOAEL, NOAEL/100) seuls ou en combinaison à des périodes critiques (périnatales) de vulnérabilité ;

2) d'identifier des signatures des miRNA (profil, localisation cellulaire, fonction, régulation hormonale) en particulier ceux impliqués dans l'apoptose phénotype de l'atteinte germinale (apoptomiR). Les miRNAs sont peu nombreux par rapport aux protéines, stables, facilement mesurables (qRT-PCR) et donc d'excellents biomarqueurs potentiels ;

3) de valider sur des lignées cellulaires existantes ou à améliorer, les miRNAs comme marqueurs d'exposition aux faibles doses et aux mélanges.

The objectives of the proposed project are to generate biomarkers of exposure to environmental pollutants such as Endocrine-Disrupting Chemicals (EDCs) resulting in alteration of reproductive health (infertility) specifically in terms of disease progression fetal, prepubertal and adult periods and long latency effects (epigenetic mechanisms). To reach these objectives, we plan to generate relevant experimental animal models based on the exposure to vinclozolin, Bisphenol A (BPA) and phthalates (MEHP) at low doses (LOAEL, NOAEL, NOAEL/100) alone or in mixture critical time points (foetal and neonatal periods) with a phenotype of altered adult germ cell development. Using cellular (primary cultures and different testicular cell lines) and animal models powered by state of the art tools such as miRNA profiling, we will attempt to identify novel mechanisms of EDCs action on germ cell development.

Altered miRNA profiling will provide miRNA signature, in testicular tissue, serum and human seminal plasma such as apoptomirs signature that will be characterized in terms of cellular source, functions, targets and hormonal regulation. As miRNA are small in number, stable, easily measurable (qRT-PCR), they may represent appropriate biomarkers that will be validated through functional studies in different testis in vitro models (cell lines). Testicular cell lines are developed and used as tools to test miRNA as biomarkers for low doses in mixtures of EDCs issue. This project will be performed in a consortium with 3 partners with complementary expertises: partner 1 (animals models and spermatogenesis processes), partner 2 (mi RNA profiling, function, targets), partner 3 (development and use of cell lines for EDCs effects).



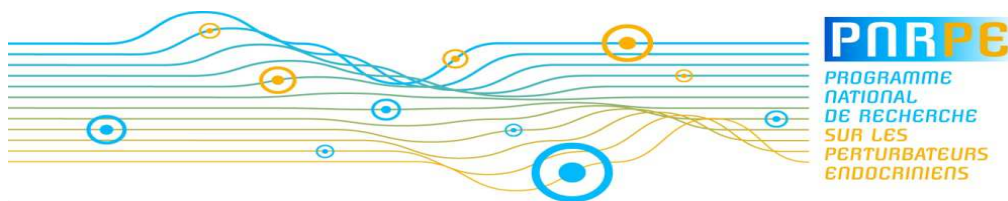
Mots clefs :

Endocrine disruptors, Bioindicator, Human health, Toxicology, Nuclear receptor, Hazard identification

Durée : 36 mois

Organismes partenaires :

Patrick Balaguer, INSERM U896, responsable scientifique
Mohamed Benhamed, INSERM, U 895, responsable scientifique
Bernard Mari, UMR 6097 CNRS responsable scientifique



2010-072 – METHYL-ED - Impact des Perturbateurs Endocriniens sur les profils de méthylation de l'ADN dans la lignée germinale

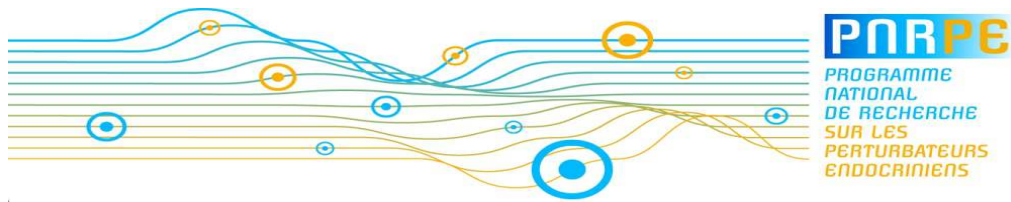
Michaël Weber

UMR7242 "Biotechnology and Cellular Signaling", CNRS, Université de Strasbourg

Résumé :

De nombreuses molécules chimiques présentes dans notre environnement agissent comme des perturbateurs endocriniens (EDs) et sont suspectées d'être responsables de la montée du taux d'infertilité et de cancer des testicules observée dans les pays développés. Cependant les mécanismes d'action moléculaires des EDs sont encore mal caractérisés. Une hypothèse, supportée par de récents travaux, est que les EDs induisent des altérations stables des profils de méthylation de l'ADN. Il est même envisageable que ces épimutations soient transmissibles entre générations et cumulatives si l'on considère l'exposition simultanée à plusieurs molécules en faible dose. Afin d'évaluer ce problème, nous proposons d'utiliser un modèle de souris exposées à deux doses d'EDs durant la gestation et de cartographier la méthylation de l'ADN à grande échelle dans la descendance sur plusieurs générations. Les changements de méthylation seront analysés en fonction de la nature des molécules, des doses d'exposition et des changements d'expression du génome. Nous proposons également de valider d'éventuels nouveaux marqueurs dans des échantillons de patients humains infertiles ou atteints de cancer des testicules. Grâce à l'application de techniques de pointe de cartographie de l'épigénome et du transcriptome, ce projet permettra d'appréhender les mécanismes d'action épigénétiques des EDs et de proposer de nouveaux biomarqueurs pour évaluer la toxicité de nouvelles molécules. Nos résultats permettront également de mieux définir les critères utilisés dans les politiques publiques pour établir la liste des molécules dangereuses.

Numerous chemical compounds that act as Endocrine Disruptors (EDs) are present in our environment and are suspected to be linked to the increased rates of infertility and testicular tumors observed in developed countries. Yet the molecular mechanisms by which EDs induce persistent gonadal dysfunctions remain largely unclear. One hypothesis, supported by several studies, is that adverse effects of EDs involve persistent alterations in DNA methylation. These epimutations could be transmitted to subsequent unexposed generations and be cumulative considering low dose exposures to various EDs. To address this question, we will use mouse models exposed to three EDs at two doses during pregnancy and map DNA methylation in germ cells of successive generations. Changes in DNA methylation will be related to the identity of the ED compound, the dose of exposure, and alteration in mRNA/miRNA expression. Finally we will validate potential novel biomarkers in human clinical samples with TDS (Testicular Dysgenesis Syndrome). By using cutting edge epigenome and transcriptome mapping technologies in combination with models of ED exposure, we will dissect epigenetic mechanisms of action of EDs and identify novel biomarkers to evaluate the potential ED effect of novel molecules. Our results will also help to refine the criteria that should be used in public policies to define the list of molecules with dangerous ED effects.



Mots clés :

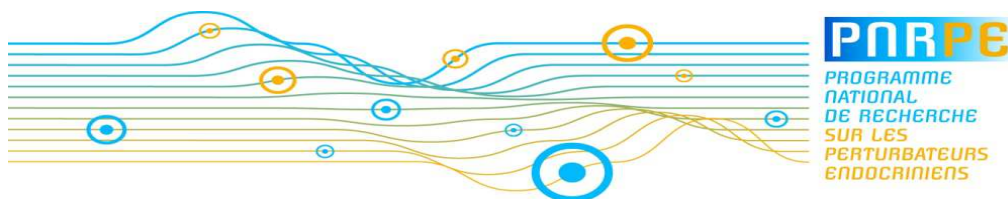
Perturbateurs endocriniens, épigénétique, méthylation de l'ADN, miRNAs, cartographie génomique, biomarqueurs, transgénérationnel, souris, homme

Durée : 24 mois

Organismes partenaires :

Michaël WEBER, UMR7242 "Biotechnology and Cellular Signaling", CNRS, Université de Strasbourg, École Supérieure de Biotechnologie

Jesus del Mazo, Centro de Investigaciones Biológicas C.I.B. (CSIC), Dep. Cell Proliferation and Development



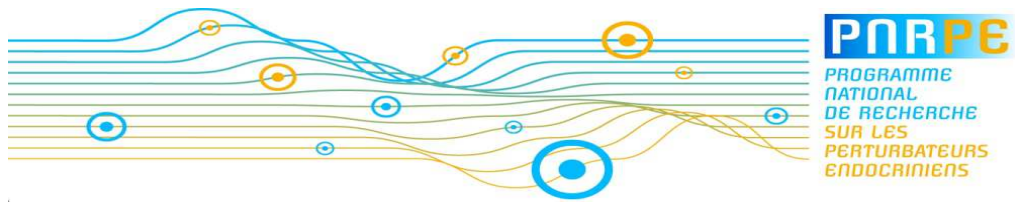
2010-031 – METAPOP - Perturbateurs endocriniens persistants du tissu adipeux et métastases

Xavier Coumoul
Université Paris Descartes, Paris

Résumé :

Les dioxines et les polychlorinated biphenyls (PCBs) sont des ligands du récepteur aux aryl hydrocarbures (AhR) et des perturbateurs endocriniens. Des études menées au sein de l'unité INSERM UMR---S 747 montrent que l'activation de ce récepteur active des processus proches de la transition épithelio---mésenchymateuse (TEM), suspectée de jouer un rôle dans la formation de cellules métastatiques cancéreuses. Les métastases sont responsables de 90% des morts par cancer. Aucune étude clinique n'a été menée pour évaluer le rôle de la pollution environnementale dans l'apparition de ces métastases. Notre projet à la fois, clinique, analytique et moléculaire, ambitionne de mesurer et de corréliser les niveaux des perturbateurs endocriniens, dioxines et PCBs, dans le tissu adipeux entourant des tumeurs mammaires primaires (bénignes pour les contrôles, malignes pour les cas) et l'expression des gènes de la batterie du AhR dans la tumeur, tout en assurant un suivi au long terme des patientes opérées notamment du point de vue de l'apparition des métastases. Ce projet (qui regroupe deux équipes ayant déjà collaboré et publié ensemble) s'inscrit dans la thématique de l'étude de l'influence de la perturbation endocrinienne sur une des étapes clés de la cancérogenèse (toutefois mal caractérisée), et ambitionne de répondre à une question majeure de santé publique (rôle de l'environnement sur l'incidence des métastases).

Dioxins and polychlorinated biphenyls (PCBs) are ligands of the aryl hydrocarbon receptor (AhR) and also endocrine disrupting chemicals. Previous studies by the INSERM UMR-S 747 unit, have shown that activation of the AhR induce cellular processes reminiscent of the epithelial mesenchymal transition (EMT) which is suspected to play a critical role in tumor progression (formation of metastatic cells). Metastasis is responsible of 90% of cancer deaths. However, to our knowledge, no studies have been conducted on the influence of environmental pollution and the incidence of metastasis. Our clinical, analytical and molecular project aims to measure and correlate the levels of dioxins and PCBs, two kinds of endocrine disruptors, in the adipose tissue surrounding primary mammary tumors (cases-controls study with benign tumors as controls) and the expression levels of AhR-battery genes in the tumors. A clinical follow-up of the included patients will be performed in order to monitor the influence of the pollutants on the incidence of metastasis. This project will be conducted by two complementary teams, which have already collaborated on other projects. The influence of endocrine disruptors on the metastatic progression is clearly unexplored and in our opinion, is a major public health issue.



Mots clefs :

Polluants organiques persistants, cancer du sein, metastases, aryl hydrocarbon receptor, dioxines, polychlorinated biphenyls (PCBs)

Durée : 36 mois

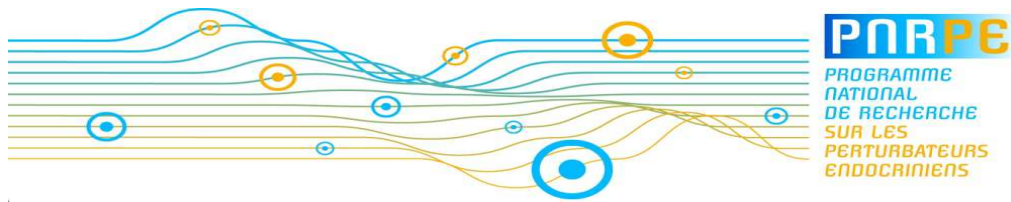
2010-032 - ECOS-Habitat - Expositions Cumulées aux composés organiques semi-volatils dans l'habitat : contamination des logements en substances perturbatrices endocriniennes

Barbara Le Bot
EHESP, Rennes

Résumé :

De nombreux composés organiques semi-volatils (COSV) comme des phénols, des phtalates ou des molécules bromées, sont présents dans les habitats (air et poussières déposées) et sont soupçonnés d'être des perturbateurs endocriniens. La présente proposition s'inscrit dans le cadre d'un projet global visant à évaluer les risques cumulés liés aux expositions à ces composés dans l'environnement intérieur. Elle vise à documenter la distribution des concentrations en COSV dans les poussières des logements français. Les molécules à analyser ont été hiérarchisées sur des critères sanitaires (niveaux de contamination et toxicité), et une méthode d'analyses multirésidus a été développée. Les poussières ont été collectées (N=300) à l'occasion d'un autre projet (Plomb-habitat) dans les sacs aspirateurs familiaux d'un échantillon représentatif des logements français abritant au moins un enfant âgé de 6 mois à 6 ans. La demande porte sur la réalisation et l'exploitation d'analyses multirésidus (phtalates, polybromodiphényléthers, polychlorobiphényles, phénols, pyréthriinoïdes, organophosphorés) en GC/MS/MS et GC/MS des poussières collectées via 180 sacs d'aspirateur. Les poussières sont tamisées à 100 µm ; elles seront extraites par solvant à haute température et à haute pression, puis analysées par chromatographie en phase gazeuse couplée à un spectromètre de masse en tandem de type triple quadripôle. Les concentrations en COSV seront exprimées sur la population des logements français en prenant en compte le plan de sondage et avec un redressement sur les caractéristiques des logements. Ces résultats serviront ultérieurement à déterminer la concentration en COSV dans l'air des logements, puis l'exposition totale aux COSV et *in fine* les risques sanitaires associés.

Many Semi Volatile Organic Compounds (SVOCs) such as phenols, phthalates, or brominated compounds are ubiquitous in indoor environments (air and settled dust) and suspected to have endocrine disrupting properties. This proposal is in the framework of a global project aiming at assessing cumulative risks due to indoor exposures to SVOCs. Its objective is to assess SVOCs concentrations in settled dust in French dwellings. Compounds have been selected on their potential for health effects (contamination vs. toxicity). Corresponding multicomponent analytical technique has been developed. Dust samples from representative French dwellings (N=300) have already been collected through household vacuum cleaners. This proposal consists in analyzing and interpreting chemical analysis of compounds (phthalates, polybromodiphenylethers, polychlorobiphenyls, phenols, pyrethroids, organophosphorus) of 180 dust samples by GC/MS/MS and GC/MS. Dust is 100µm sieved; it will be solvent extracted at high pressure and high temperature, and then analysed by a gas chromatograph coupled with a tandem mass triple quadrupole spectrometer. SVOCs concentrations will be expressed on the population of French dwellings, by inclusion of survey weights, and after adjusting on age of building, location and type: individual or collective. These results will afterwards



be used for assessing SVOCs concentrations in air, total indoor exposure and associated health risks

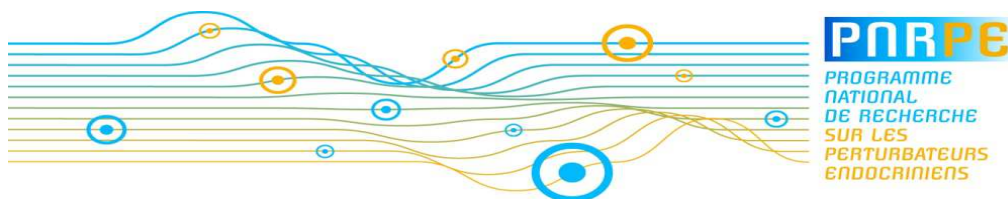
Mots clefs :

composés organiques semi-volatils, perturbateur endocrinien, poussière sédimentée, exposition domiciliaire, évaluation des risques sanitaires

Durée : 36 mois

Organisme partenaire :

Centre Scientifique et Technique du Bâtiment



2010-065 – MELBA - Obesity-linked metabolic disturbances in mice exposed to low doses of bisphenol A or its substitute bisphenol S: multi-organs study - Role of the nuclear receptor ERRA

Marie-Christine Chagnon
 Université de Bourgogne, Dijon

Résumé :

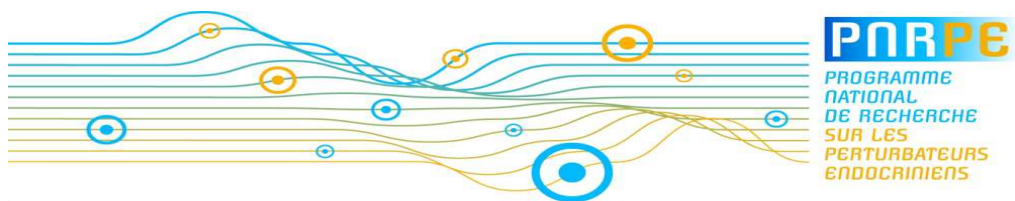
Le bisphénol A (BPA) est un monomère utilisé dans l'industrie pour la polymérisation des plastiques (polycarbonate) et des résines époxy présentes dans les boîtes de conserves et les pansements dentaires. Le BPA est un perturbateur endocrinien, il se lie aux récepteurs aux estrogènes et entraîne des dysfonctionnements de l'appareil reproducteur chez les rongeurs. Des études ont montré que le BPA avait des effets néfastes autres ; dommage hépatique, altération de la fonction intestinale et implication dans la mise en place de l'obésité. Au cours d'une étude préliminaire, les partenaires 1.1 et 1.2 ont montré une augmentation de la prise de poids (50%) lors d'une exposition périnatale en BPA des souris, corrélée à l'augmentation de leur masse grasse, quelle que soit la dose, pour les souris mâles. *In vitro*, le BPA se lie à l'ERR α , un récepteur impliqué dans le métabolisme des lipides. Les recherches sont focalisées sur les effets toxiques du BPA mais peu de données sont disponibles sur le BPS, molécule de substitution du BPA. Ce projet vise par une approche intégrée et complémentaire à étudier l'impact à faible dose du BPA et du BPS sur le métabolisme des lipides chez la souris, le rôle de l'intestin, du foie, du tissu adipeux et du ERR α . Des souris transgéniques KO conditionnelles à l'intestin seront utilisées. Des études *in vitro* permettront d'approfondir les mécanismes moléculaires.

Ces nouvelles données serviront d'aide à la décision pour les gestionnaires du risque.

BPA is a synthetic agent used in polycarbonate plastic for food packaging and products as baby bottle or epoxy resins that lines food and beverage cans or dental sealants. BPA is an endocrine disruptor; it binds to estrogen receptors and affects the rodent reproductive tract in female and male offsprings.

Additional side effects of BPA include liver damage, alteration of intestinal function and obesity promoting effects. In a pilot study, partner 1-1/1-2 showed a body weight increase (up to 50%) of pups born to BPA-exposed dams related to body fat mass. The effect occurred whatever the doses used in male mice. In vitro, BPA bound to the Estrogen-Related Receptor α , involved in lipids absorption and metabolism. Researches focus on the BPA toxicities but in term of risk assessment, few studies are performed on its substitute (BPS), a structural similar compound on the market, with an estrogenic activity. The global project plans to check the hypothesis that perinatal low exposure (0,2 $\mu\text{g}/\text{kg bw}/\text{d}$) to BPA/BPS could promote adult-onset obesity in mice and to investigate the role of three organs active in lipid homeostasis (intestine, liver, adipose tissues) taking into account the involvement of nuclear receptor ERRA. Experiments using intestine conditional ERRA $-/-$ mice will be performed.

Investigations using in vitro models (primary cultures, human cell lines) will contribute to the understanding of molecular mechanisms. Food safety is a major concern for consumers and a great challenge for regulation authorities. This project will give new data on BPS, required by the legislation authorities.



Mots clefs :

Perturbateurs endocriniens, BPA, BPS, métabolisme des lipides, intestin, foie, tissu adipeux, cellules humaines et murines, souris ERRa KO, PXR et voies de détoxification

Durée : 36 mois

Organismes partenaires :

Laboratory of Nutrition Physiology, INSERM U866, Dijon

TOXALIM, INRA UMR1331, Sophia Antipolis