

**Effets du mélange de 2 Polluants
Organiques Persistants (dioxine/
pesticide) sur la régulation de
l'expression des gènes dans la lignée
cellulaire humaine HepaRG**

Introduction: xénobiotiques

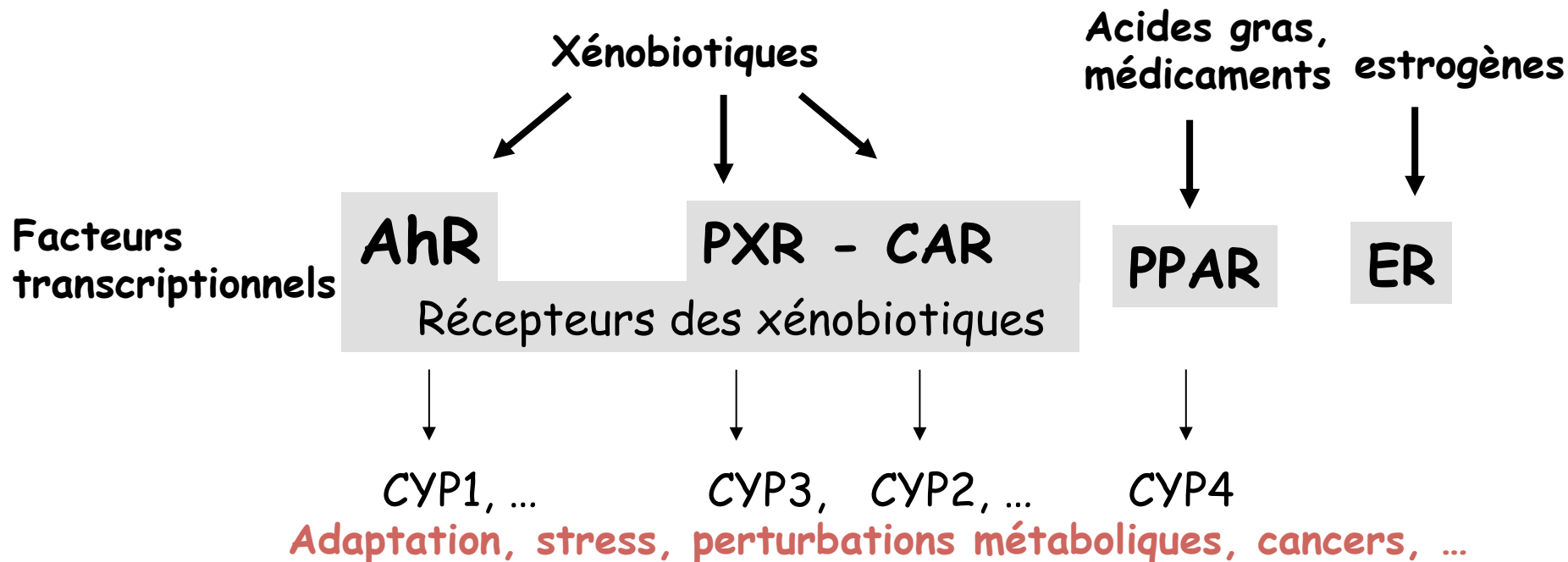
Les organismes vivants sont exposés à une grande variété de xénobiotiques (molécules souvent de faible poids moléculaire, étrangères à l'organisme, souvent hydrophobes), en général sous forme de mélanges complexes.



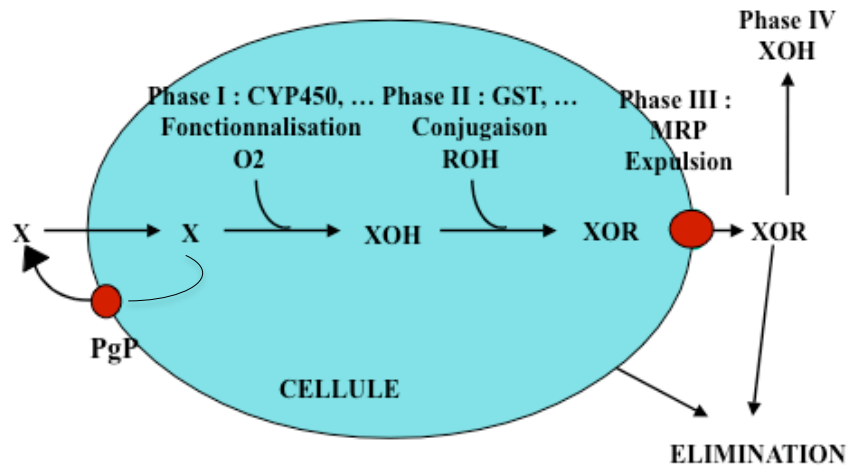
Médicaments
Aliments
Polluants



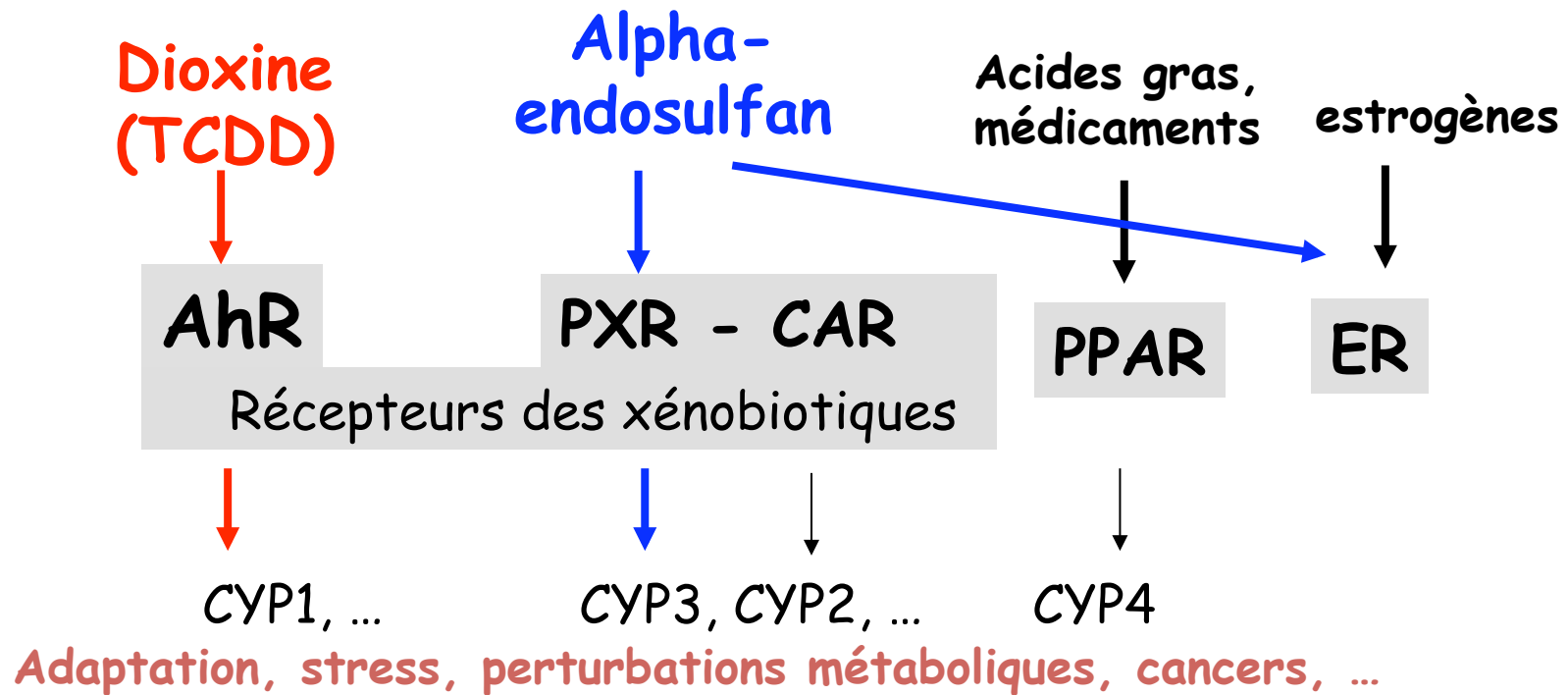
Toxicité des mélanges de xénobiotiques



CYP : cytochrome P450
(phase I du métabolisme des xénobiotiques)

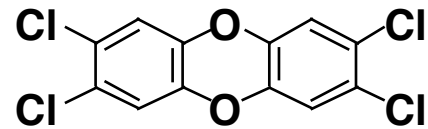


Toxicité des mélanges de xénobiotiques ?



Dioxines

TCDD : 2, 3, 7, 8 tétrachlorodibenzo-*p*-dioxine (dioxine de Seveso)



Origine :

- incinérateurs
- sous-produit de la fabrication de pesticides, de pâte à papier
- feux de forêt, volcan, ...

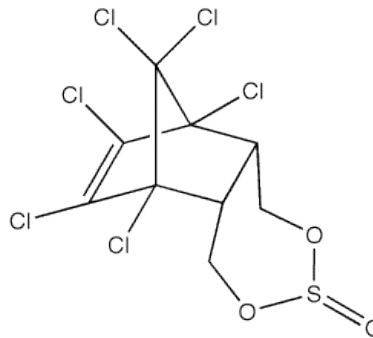
Contamination :

- ingestion (bioconcentration dans la chaîne trophique)
- inhalation
- exposition cutanée



Pesticides organochlorés

Alpha-endosulfan : insecticide organochloré lipophile

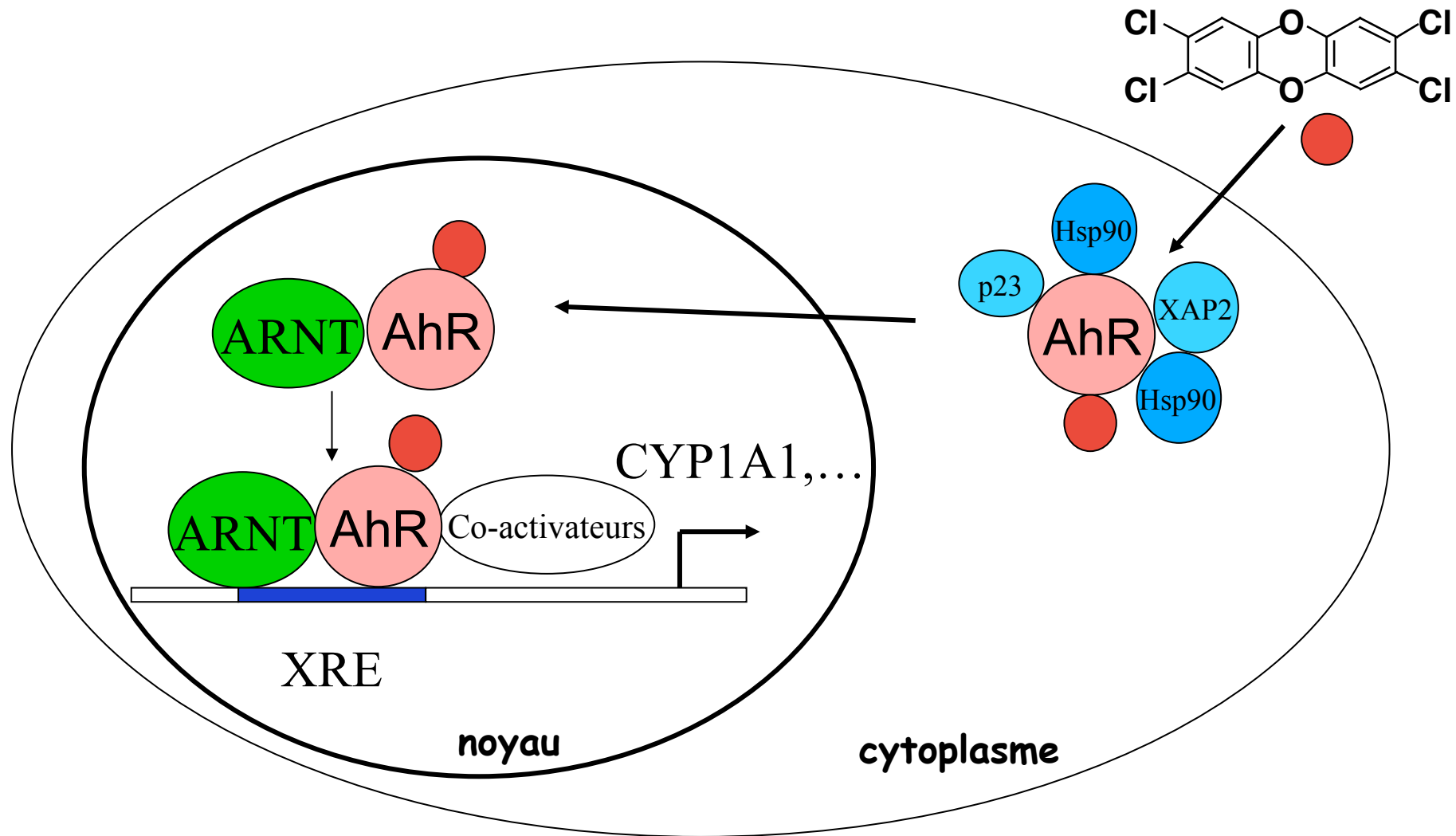


Contamination :

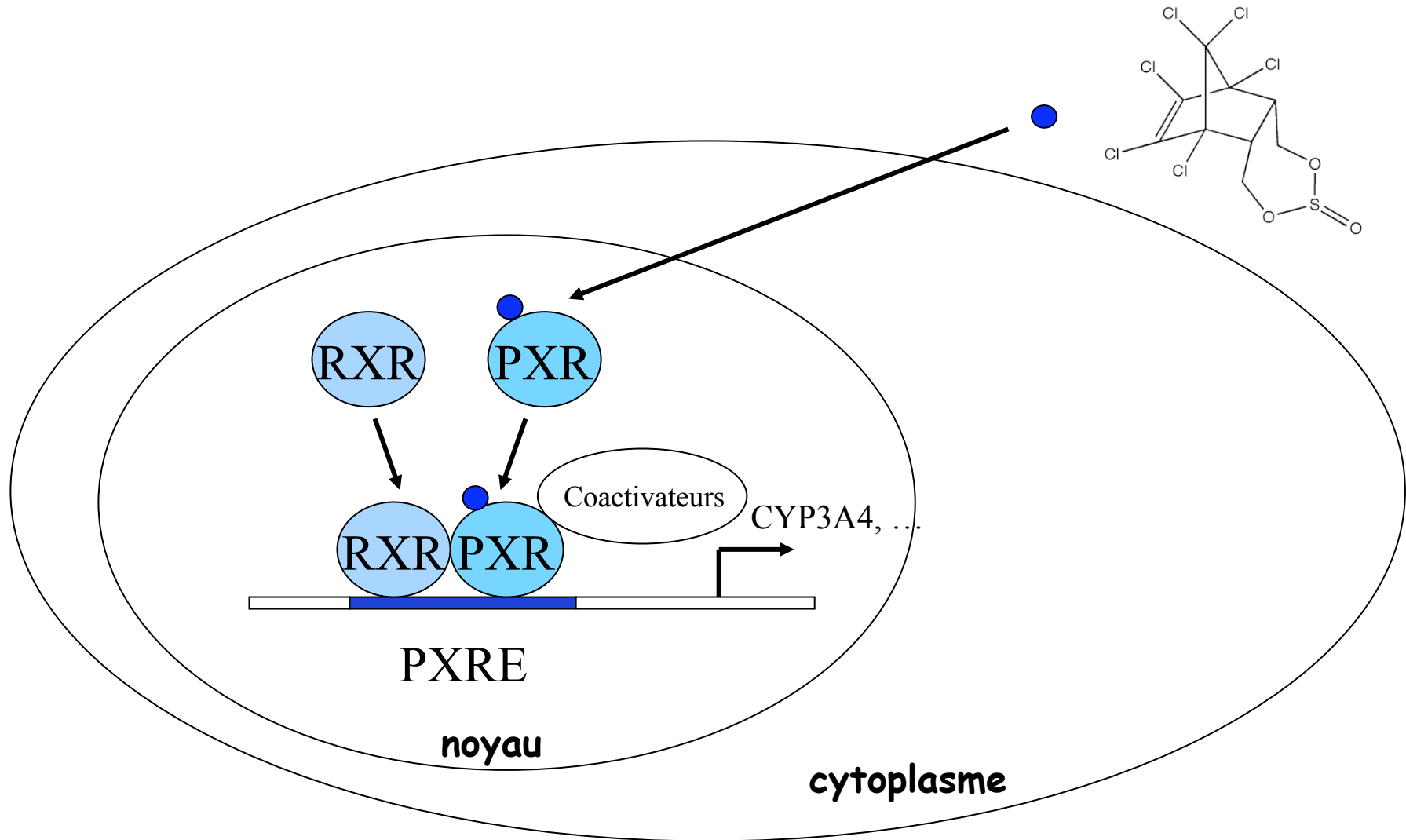
- ingestion (aliments, eau de boisson)
- inhalation (pulvérisation de pesticides)
- contact cutané (manipulateurs de pesticides)



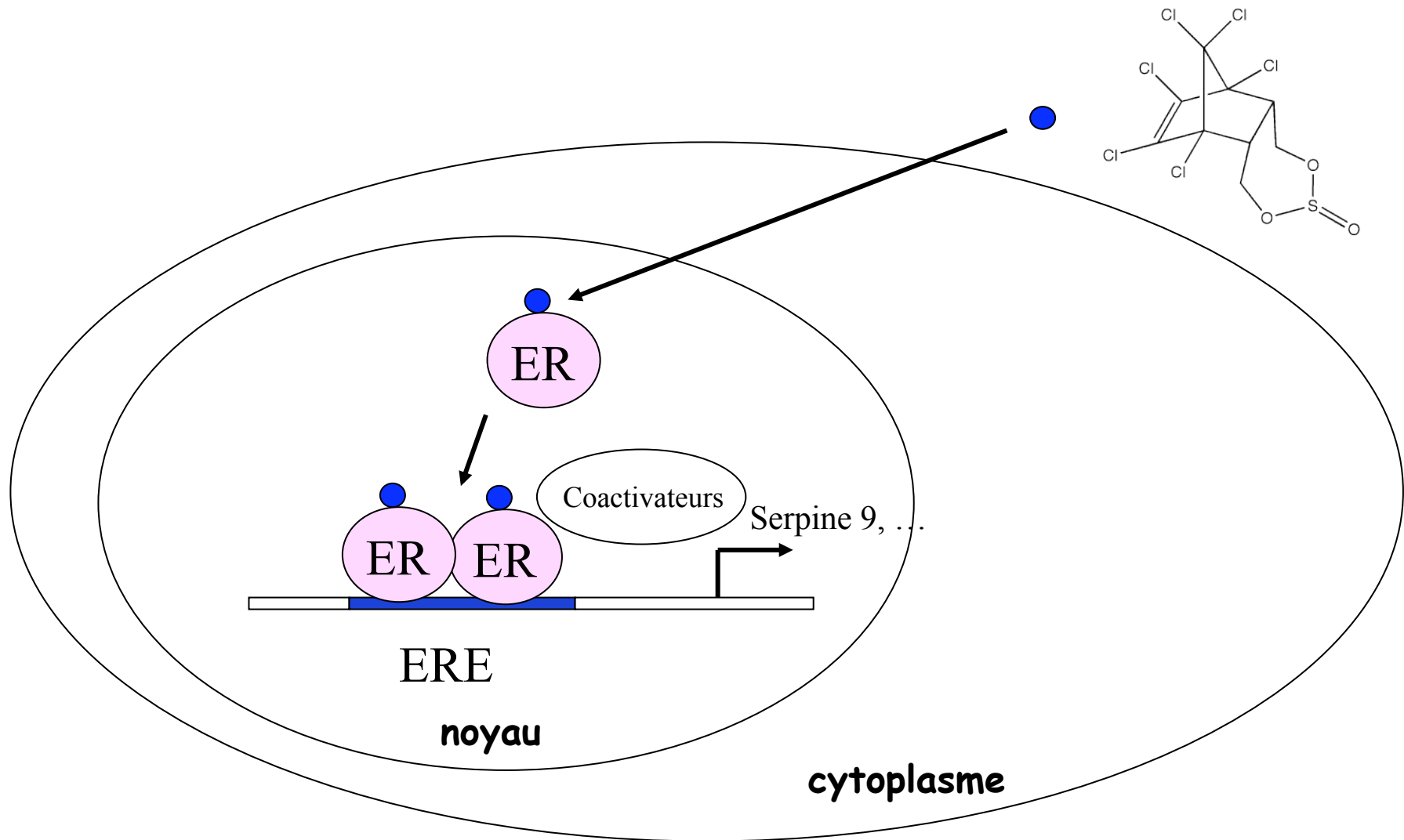
Voie de signalisation du AhR: « Aryl hydrocarbon receptor »



Voie de signalisation du PXR: « pregnane X receptor »



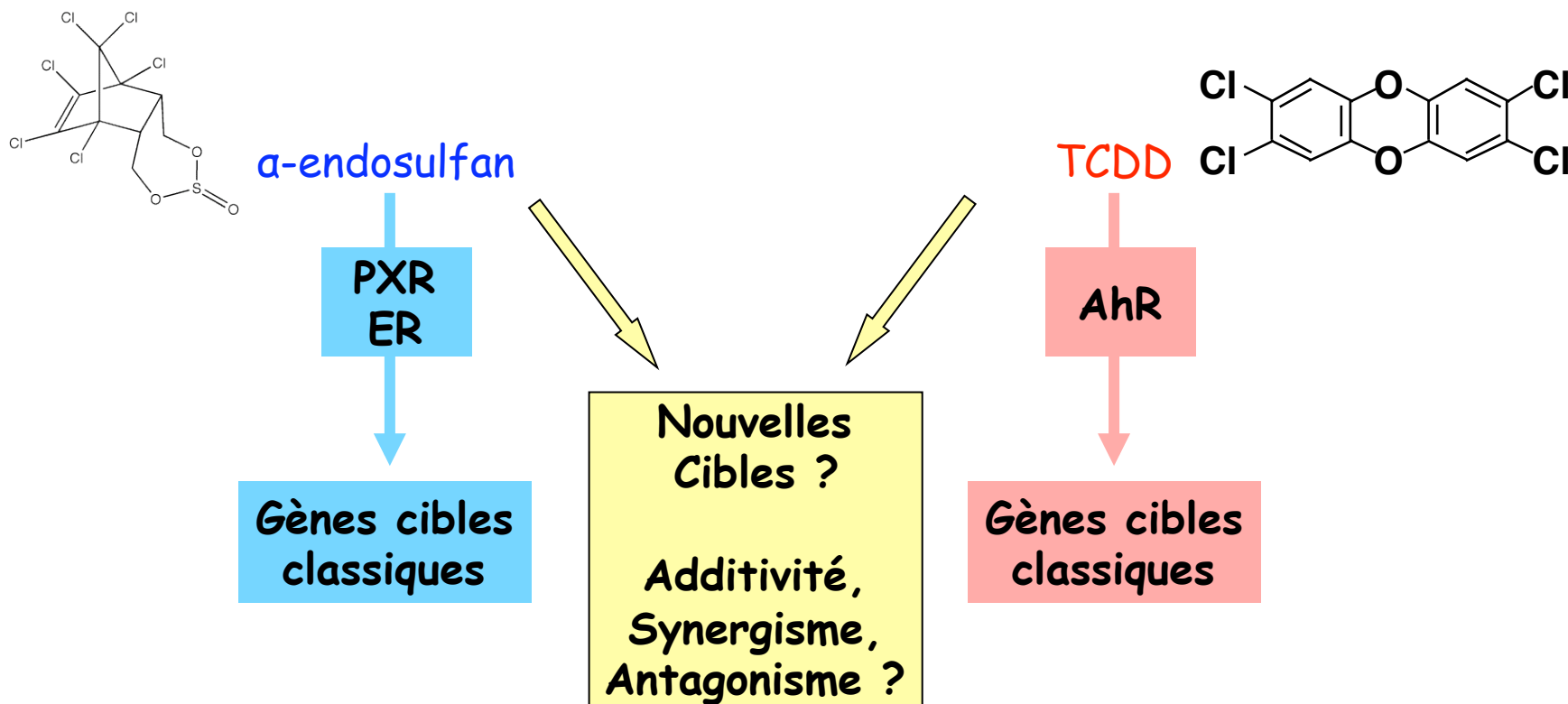
Voie de signalisation du ER: « estrogen receptor »



But de l'étude

Contamination des organismes vivants par les polluants (hommes et animaux) en général sous forme de mélanges complexes.

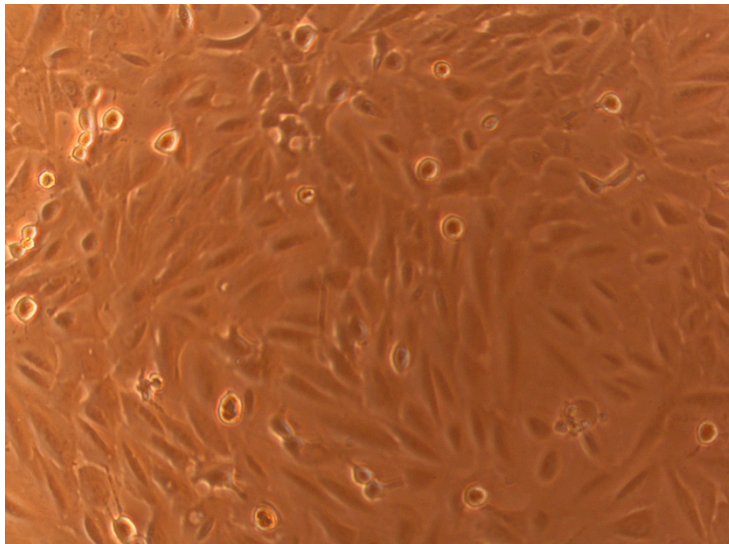
Peu d'études de mélanges de polluants utilisant des voies de signalisation différentes



Modèle: lignée humaine HepaRG

Cellules type « biliaire »

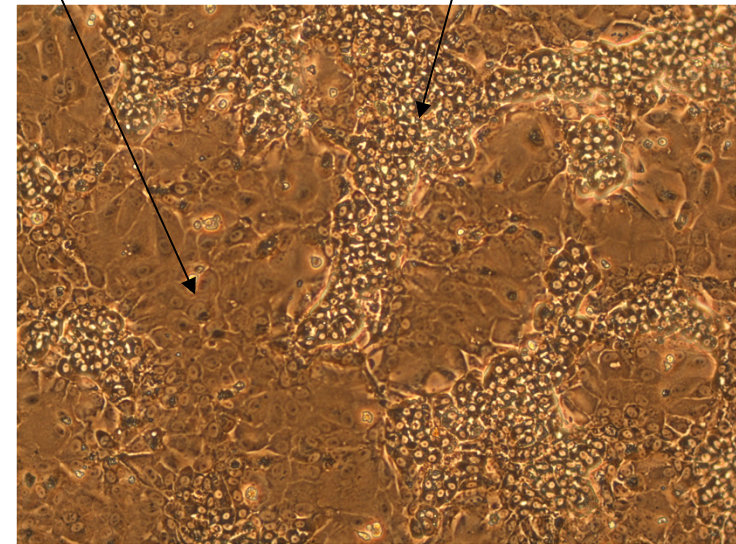
Cellules type
« hépatocytaire »



Cellules à confluence non
différenciées
(insuline+hydrocortisone)



+ DMSO
1,5%
15 jrs



Cellules différenciées

Dessin expérimental et résultats transcriptomique

- * Cellules HepaRG différenciées traitées or non 30h par:
 - ✓ DMSO 0.15% (contrôle)
 - ✓ 25nM TCDD
 - ✓ 10 μ M α -endosulfan
 - ✓ 25 nM TCDD+10 μ M α -endosulfan

- * Expression génique globale (ARNm)
Puces à ADN pangénomiques
Affymetrix

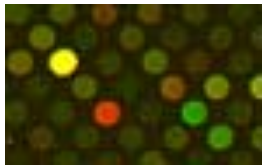
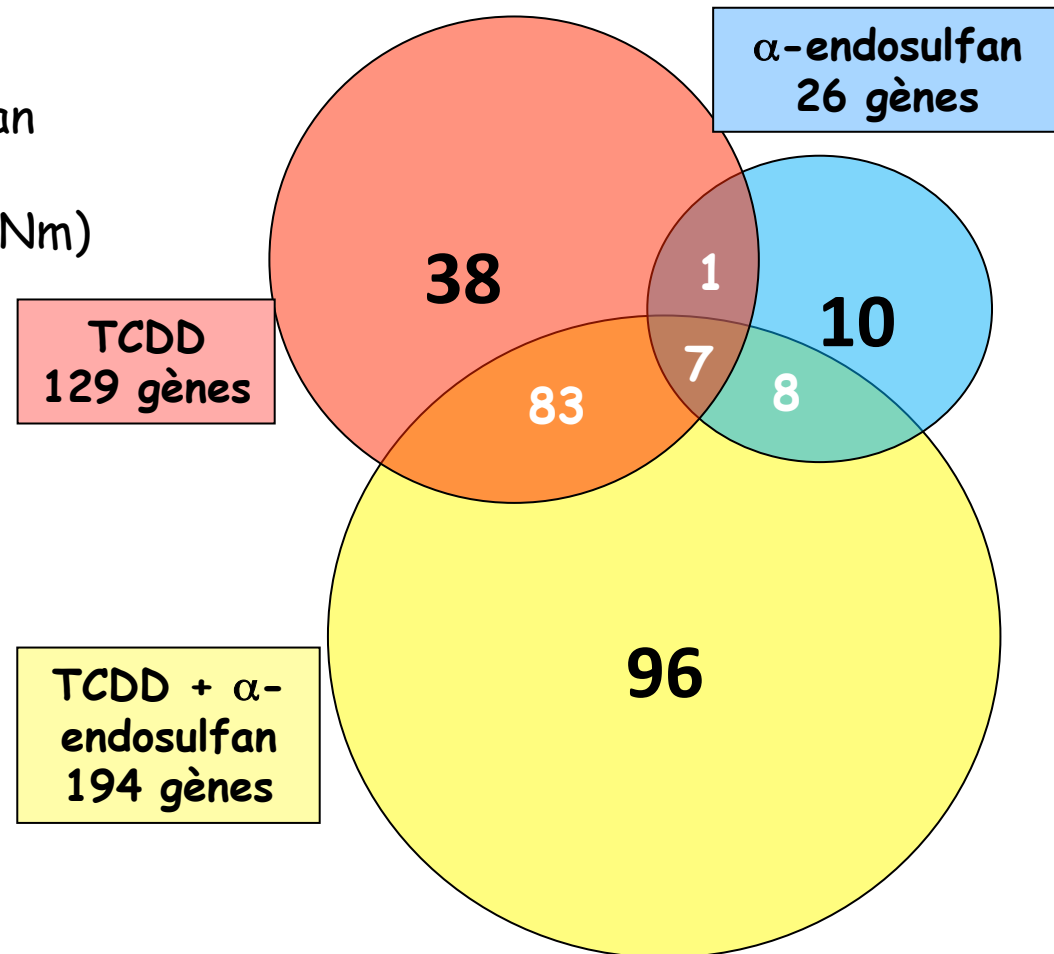
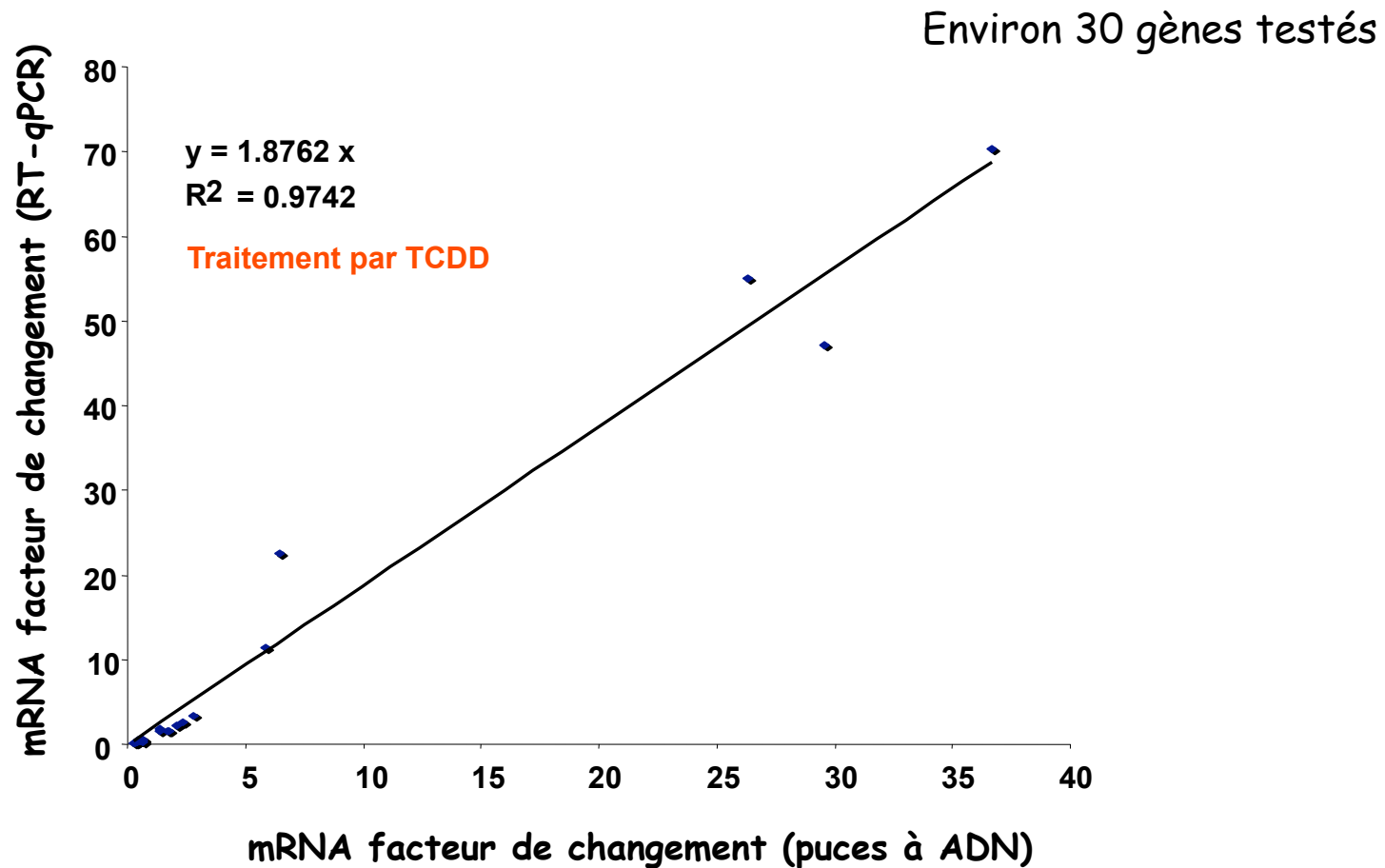


Diagramme de Venn

Facteur > 2 ou
Facteur < 0.5
P < 0.05



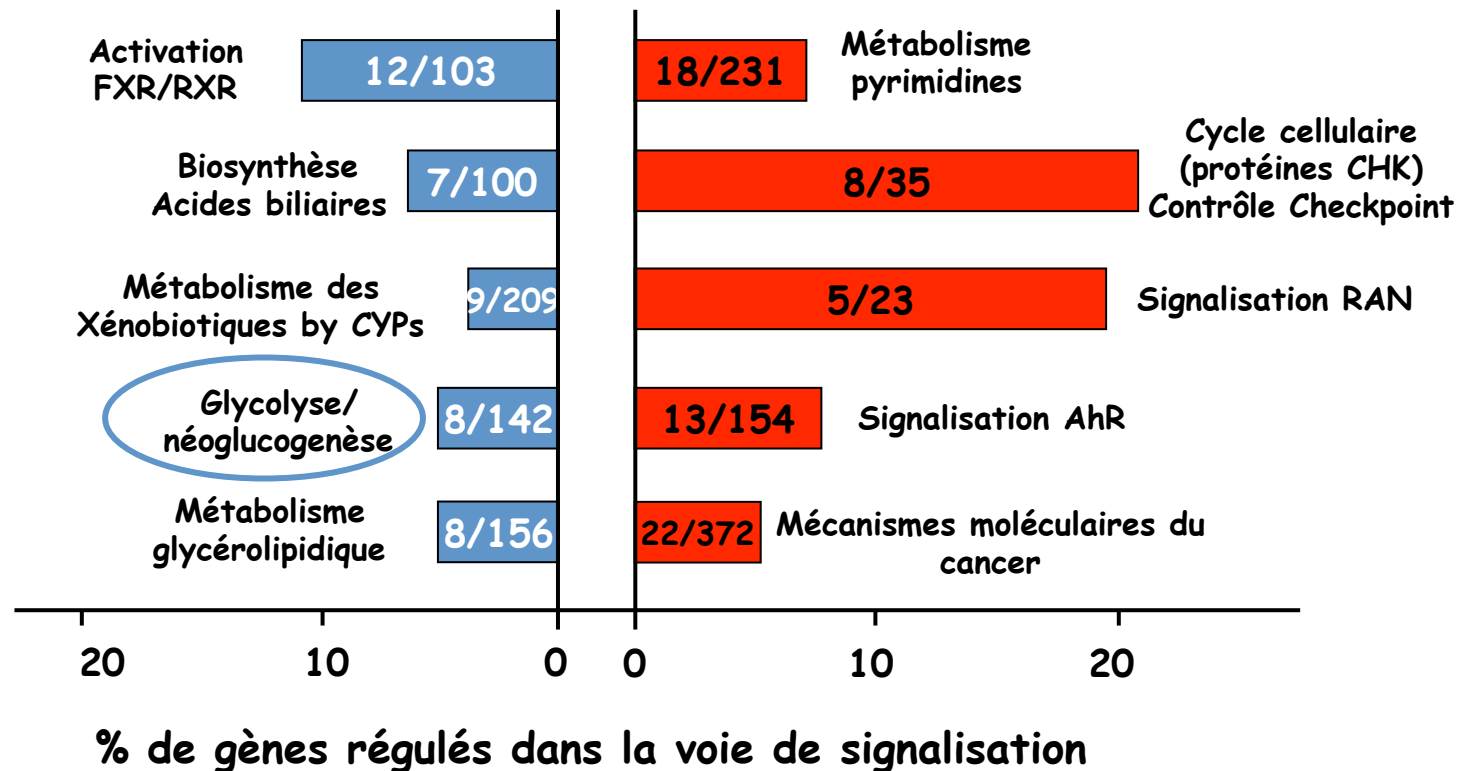
Comparaison des niveaux d'expression en ARNm en transcriptomique et RT-QPCR



Voies de signalisation régulées par la combinaison TCDD + α -endosulfan

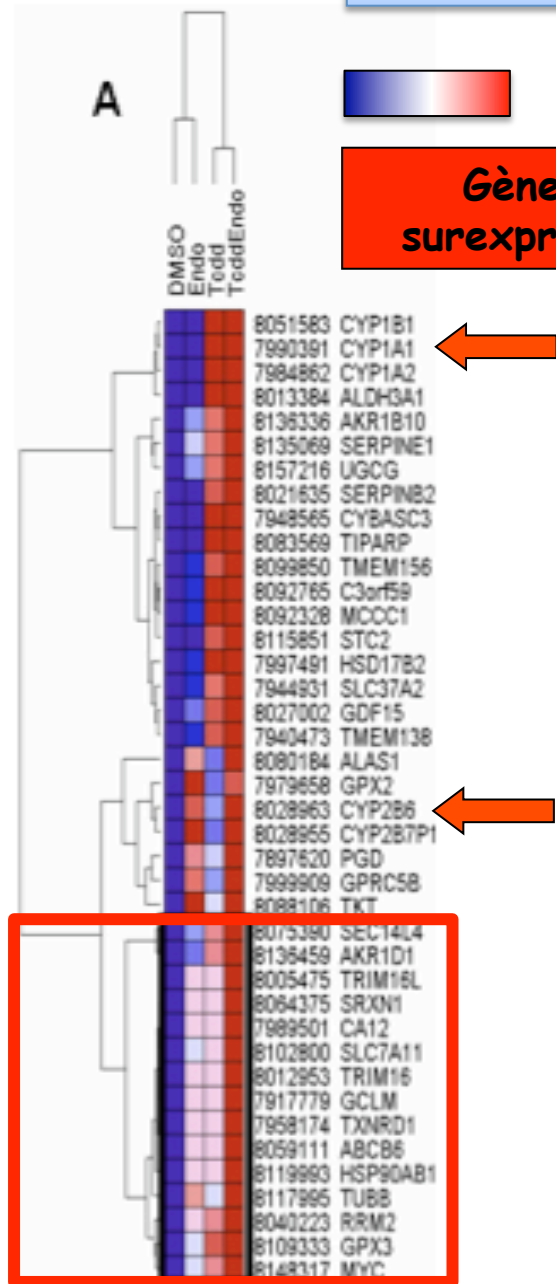
Gènes sous-exprimés

Gènes surexprimés

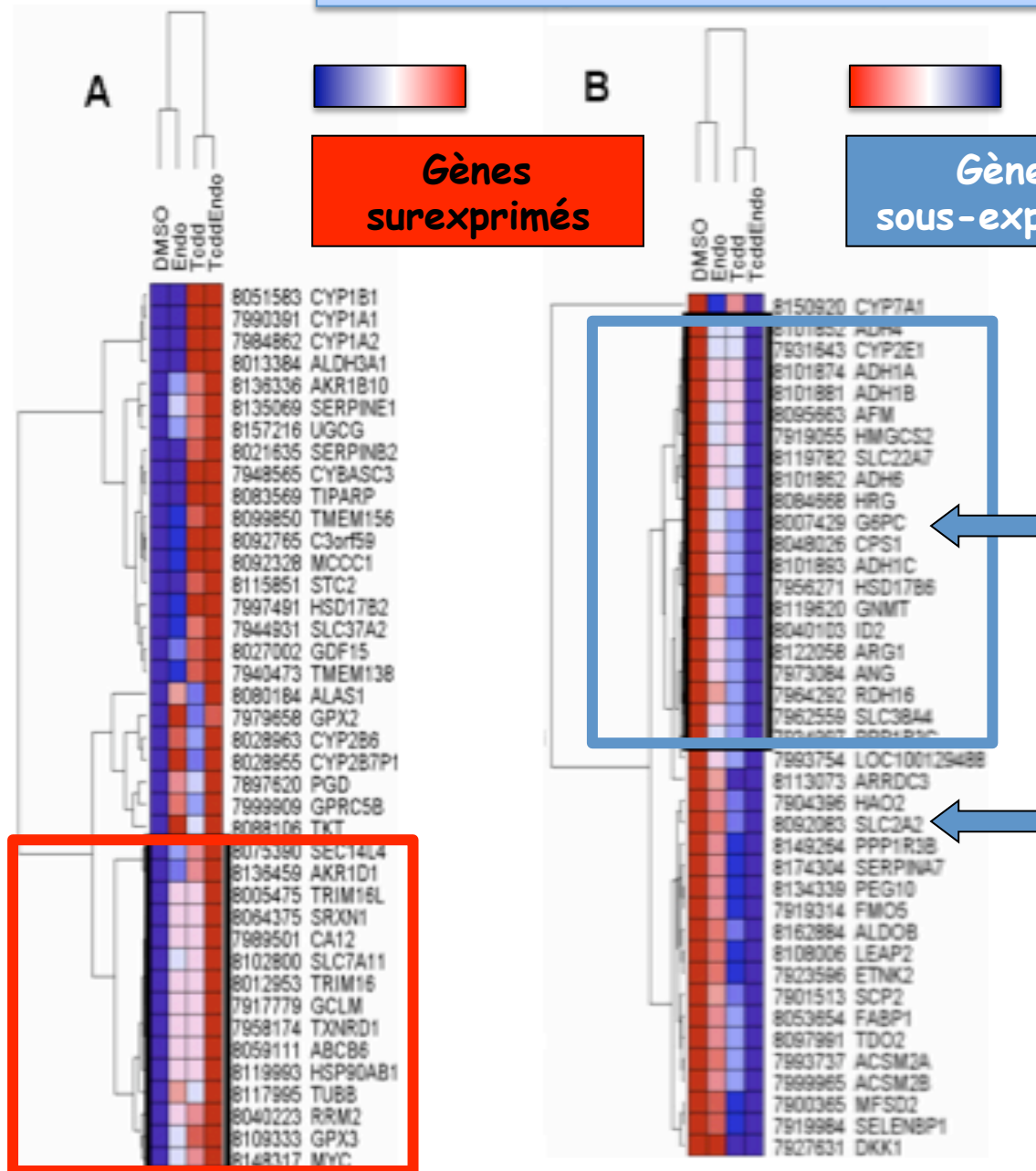


Ingenuity analysis

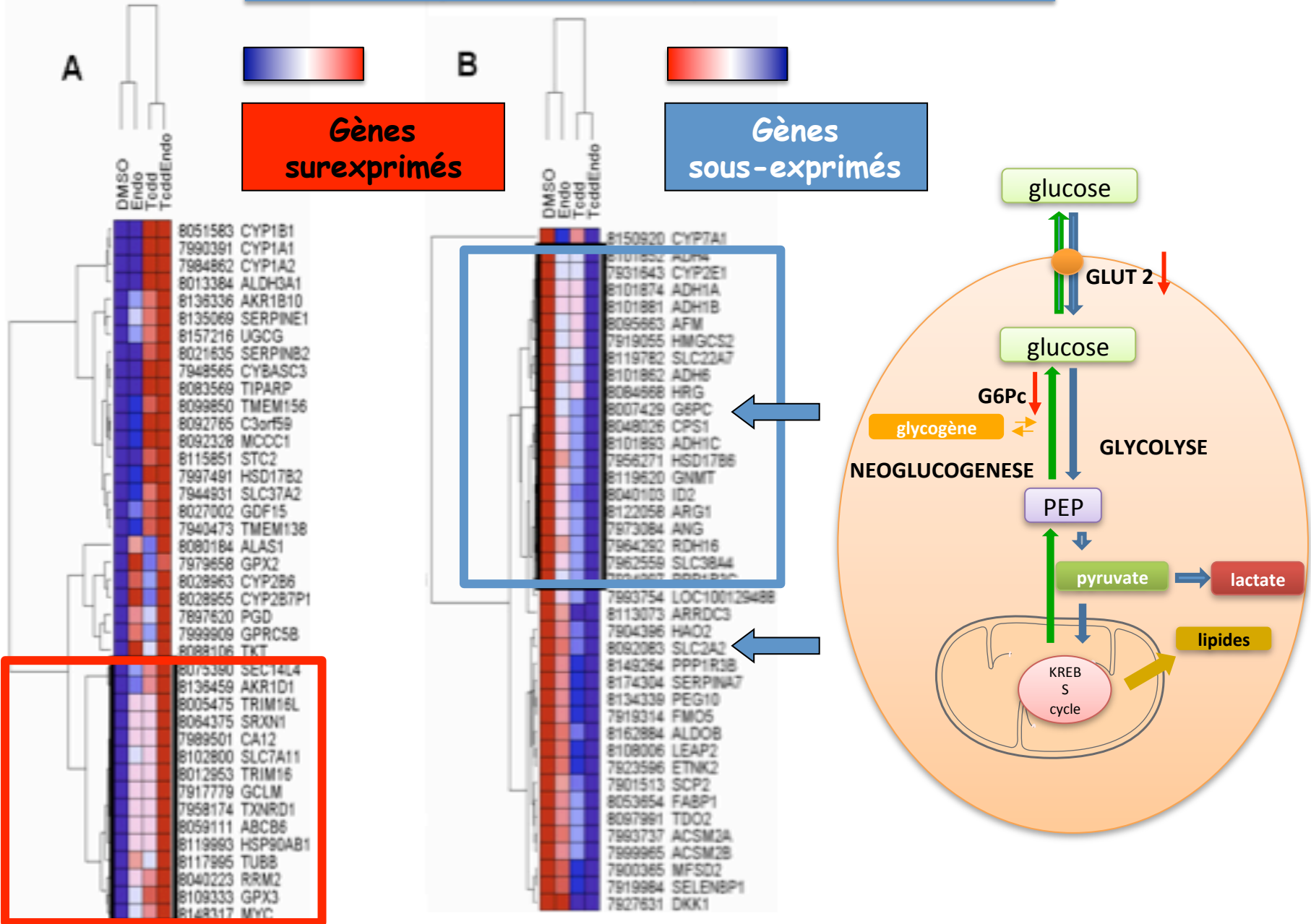
Analyse hiérarchique en cluster



Analyse hiérarchique en cluster

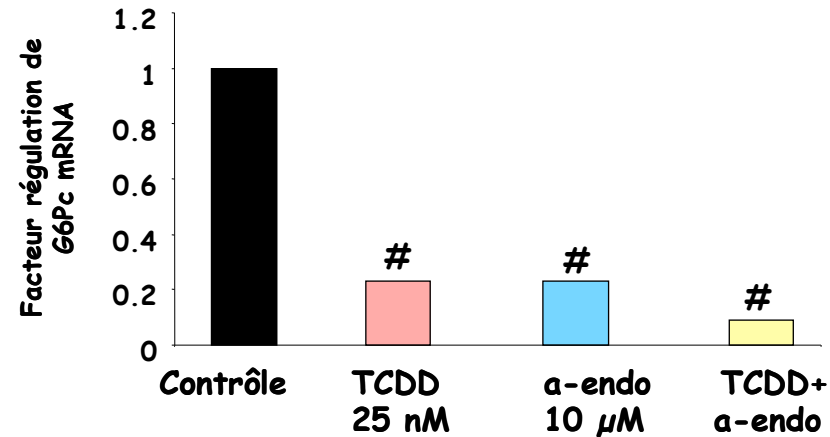


Analyse hiérarchique en cluster

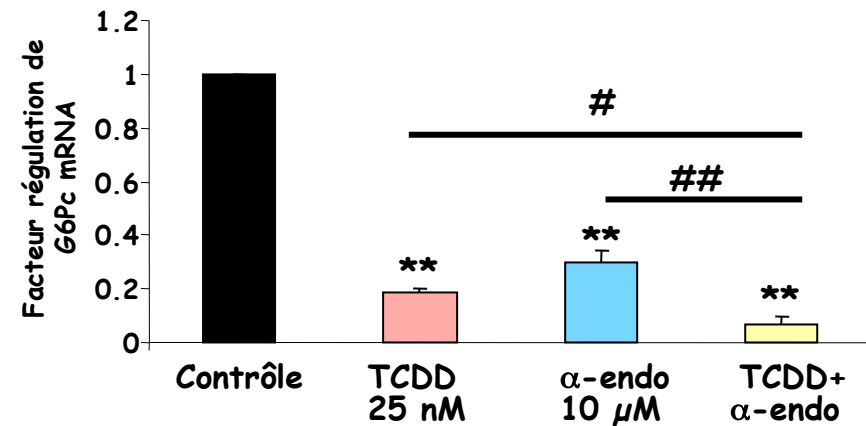


expression en ARNm et protéine: G6Pc (glucose 6 phosphatase)

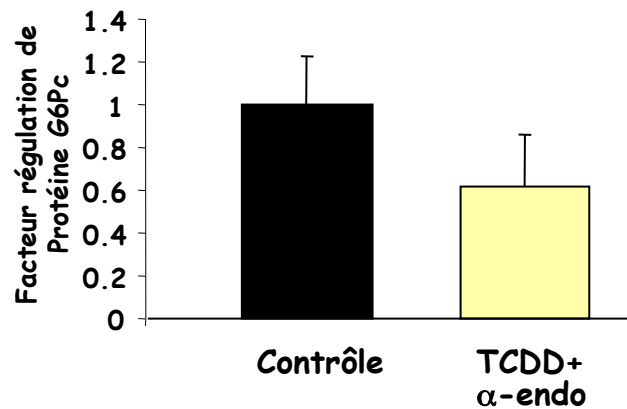
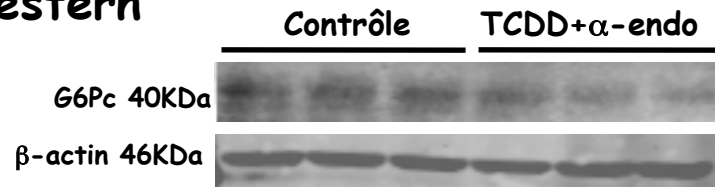
Puces à ADN



RT-QPCR

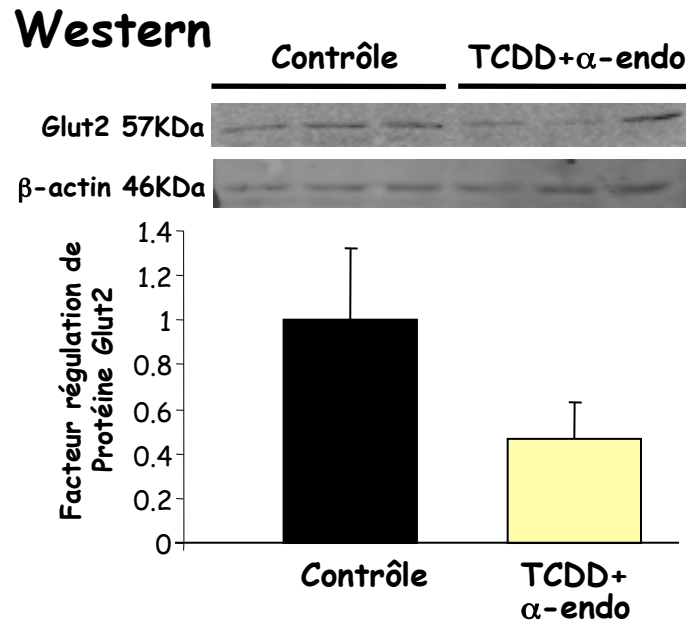
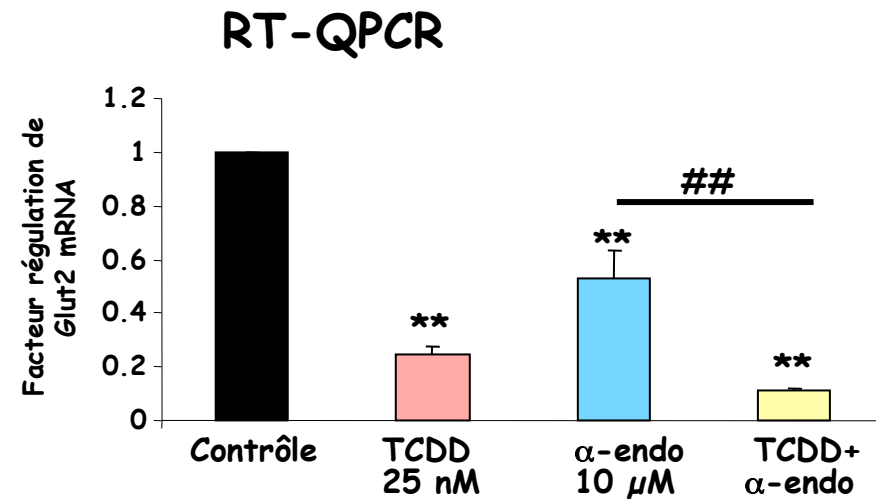
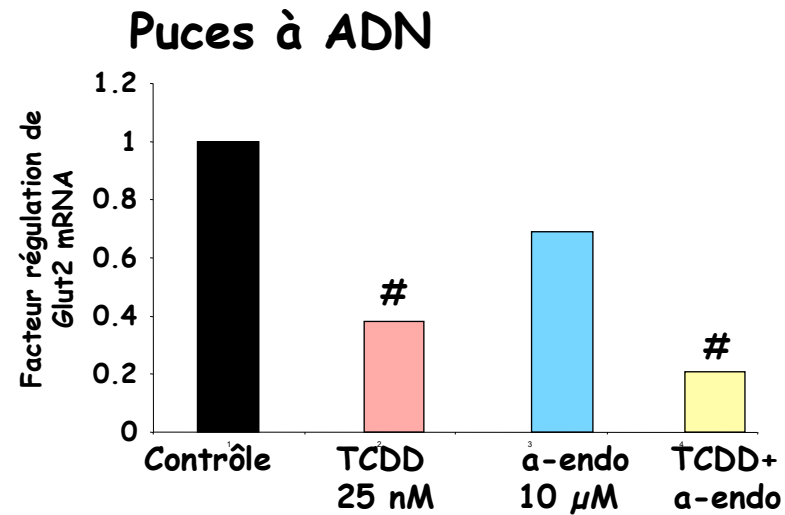


Western



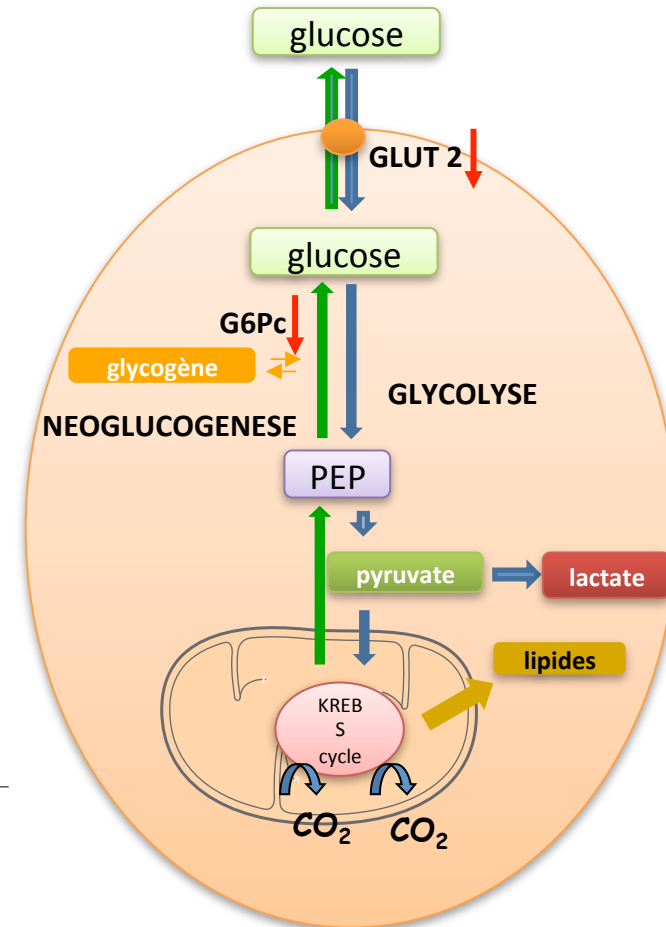
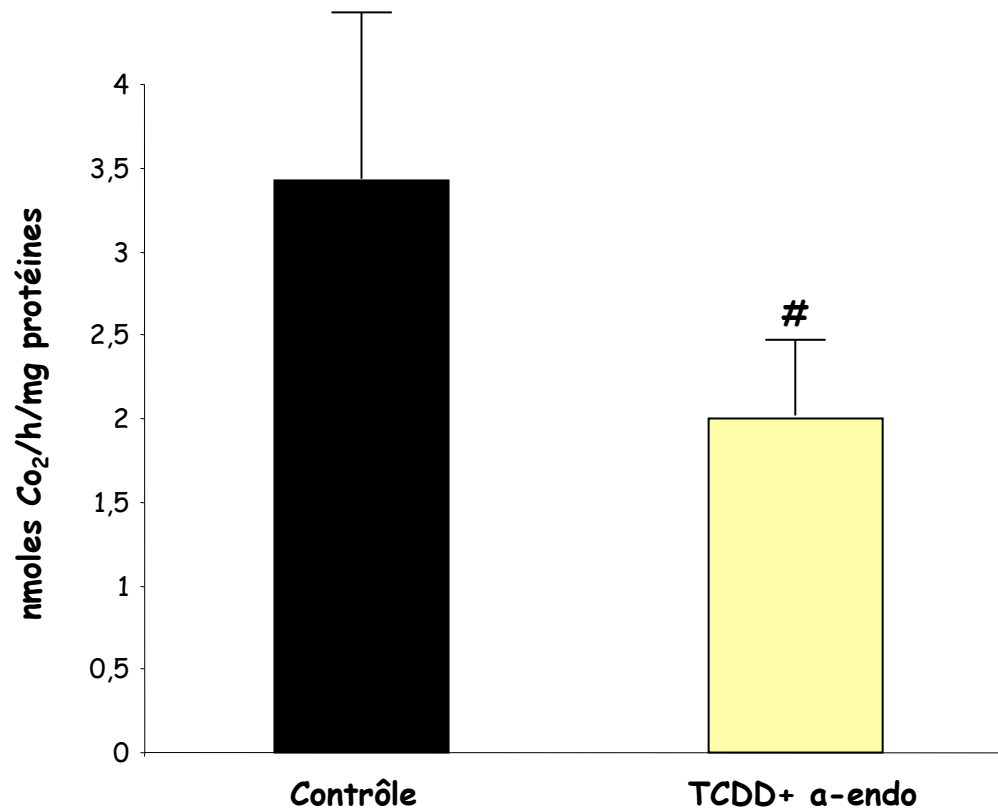
** p < 0.0001 # p < 0.05
 ###

Expression en ARNm et protéine: Glut2 (transporteur 2 du glucose)



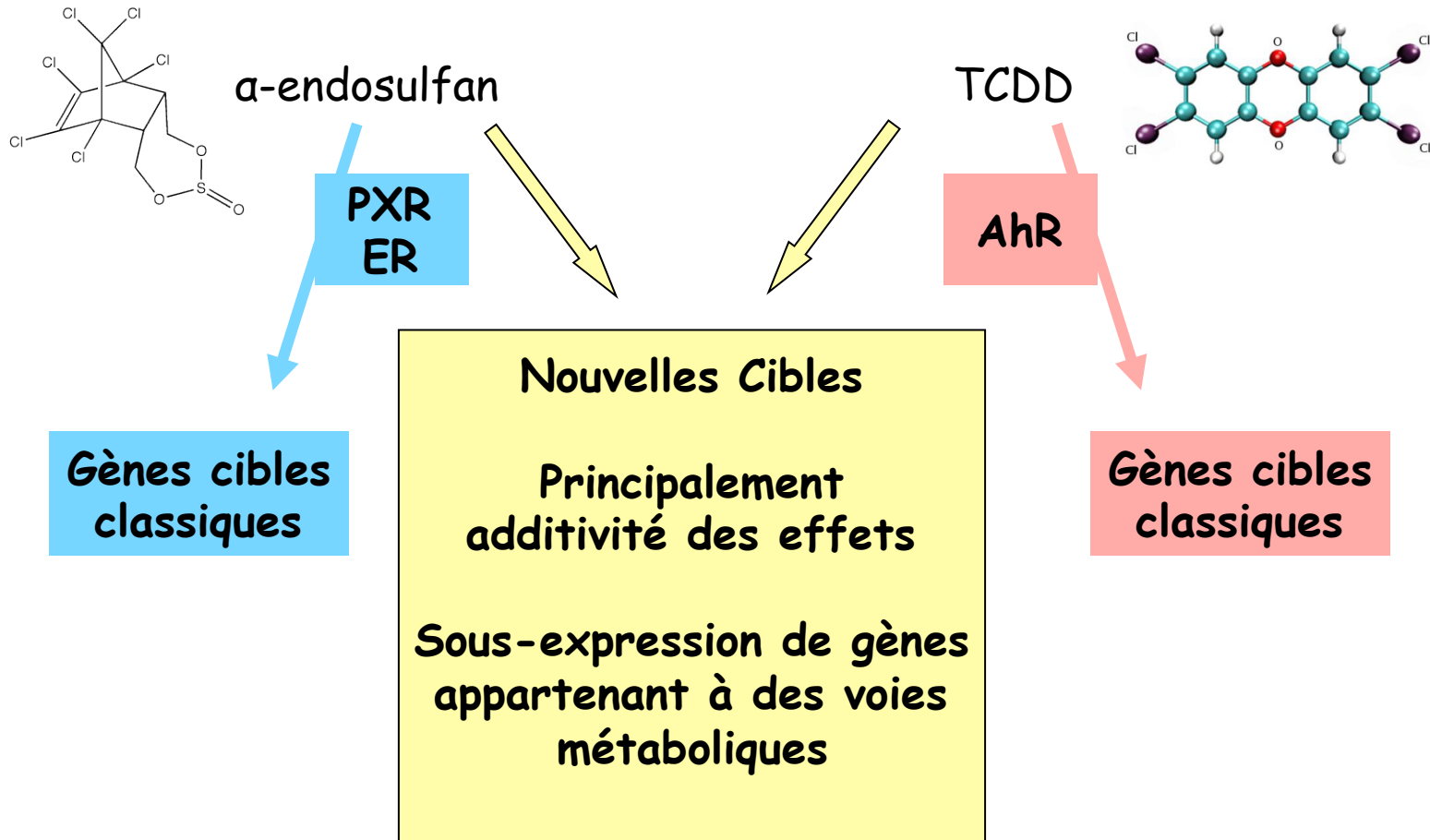
** p < 0.0001 # p < 0.05
###

Effet du mélange TCDD/ α -endosulfan sur l'oxydation du glucose



$p < 0.05$ $n=4$

Conclusion





UMR-S 747 INSERM,
Université Paris Descartes

Dr Ariane Ambolet-Camoit
Dr Minji Kim
Dr Chris Ottolenghi
Melle Alix Leblanc
Dr Sylvie Bortoli
Dr Chantal Benelli
Mme Martine Collinet
Pr Robert Barouki



Plateforme génomique, Institut Cochin
Université Paris Descartes

Dr Franck Letourneur
M. Sébastien Jacques
M. Nicolas Cagnard



UMR 991 INSERM,
Université de Rennes 1

Dr Christiane Guguen-Guillouzo



Analyse hiérarchique en cluster

