

# 54

## Mécanismes d'action

Les mécanismes d'action des PFC ne sont pas clairement identifiés. Plusieurs études ont analysé les récepteurs nucléaires impliqués chez les mammifères et les poissons.

### Récepteurs nucléaires

Vanden Heuvel et coll. (2006) ont utilisé un système chimérique de récepteur nucléaire possédant un site de liaison au ligand et un site de liaison à l'ADN « Gal4 » pour étudier l'activation, chez l'homme, la souris et le rat, de différents récepteurs nucléaires humains (récepteurs PPAR $\alpha$ , PPAR $\beta$  et PPAR $\gamma$ , LXR $\alpha$ , LXR $\beta$  et RXR $\alpha$ ) par le PFOS et le PFOA. Leurs résultats ont montré que le récepteur PPAR $\alpha$  est la cible principale de ces deux PFC, bien que le récepteur PPAR $\gamma$  soit également activé dans une plus faible mesure. Ces travaux ont été confirmés par d'autres équipes (Shiple et coll., 2004 ; Takacs et Abbott, 2007 ; Rosen et coll., 2008 ; Wolf et coll., 2008 ; Bjork et Wallace, 2009 ; Foreman et coll., 2009).

Cependant, des expériences réalisées sur des souris déficientes en PPAR $\alpha$  indiquent qu'une partie des gènes (5-10 %) dont l'expression est modulée par les PFC serait sous le contrôle du récepteur nucléaire CAR (*Constitutive activated receptor*) (Cheng et Klaassen, 2008 ; Rosen et coll., 2008). Il est à noter qu'une étude récente a montré un effet de PFOA sur l'ovaire et sur la glande mammaire chez des souris mutantes pour PPAR $\alpha$ , effet qui serait également indépendant de PPAR $\alpha$  (Zhao et coll., 2010).

### Mécanismes d'action chez les poissons

Chez les poissons, trois voies de signalisation dépendant de la famille des récepteurs nucléaires ont été associées aux effets de PFC : la voie des œstrogènes, les PPAR et la voie de réponse aux hormones thyroïdiennes. Il est difficile pour l'instant de déterminer si ces trois voies sont altérées par les mêmes molécules, si elles le sont ensemble et quelles sont les cibles directes des PFC.

En ce qui concerne la voie de réponse des œstrogènes, Ishibashi et coll. (2008) ont observé que deux fluorotéломères (6 :2 FTOH et 8 :2 FTOH) et

du NFDH sont capables d'activer transcriptionnellement le ER $\alpha$  mais pas le ER $\beta$  de medaka. D'autres PFC comme le PFOS et le PFOA ne montrent pas ces effets. De façon cohérente, 6 :2 FTOH, 8 :2 FTOH et NFDH induisent l'expression de la vitellogénine et de ER $\alpha$  chez les mâles, les effets de PFOS et PFOA dans ce test n'ayant malheureusement pas été étudiés chez la même espèce. Cependant chez le tilapia, une induction de la vitellogénine par le PFOS et le PFOA a bien été démontrée et cet effet est ER dépendant car il est bloqué par une co-exposition au tamoxifène (Liu et coll., 2007). Ces données suggèrent que tous les PFC n'ont sans doute pas le même mécanisme d'action : certains agiraient via ER $\alpha$  (FTOH) et d'autres via PPAR $\alpha$ . En lien avec une perturbation de la signalisation œstrogénique, une diminution de l'expression de l'aromatase (CYP19a et CYP19b) a été observée sur des embryons de zebrafish traités à des doses de 0,1 à 5 mg/l de PFOS (Shi et coll., 2008). Des traitements de zebrafish adultes à des doses de 0,3 à 30 mg/l de 6 :2 FTOH montrent une altération de l'axe hypothalamo-hypophyso-gonadique à de nombreux niveaux chez les mâles et les femelles : augmentation de E2 et de la testostérone, induction de ER $\alpha$  et des vitellogénines. Chez les mâles, en cohérence avec l'augmentation de la testostérone, on note une augmentation de l'expression de la C17-stéroïde hydroxylase CYP17 et une diminution de l'aromatase (Liu et coll., 2009a). Une étude a montré en outre que le PFOS avait, à des doses de 160 mg/l, la capacité de déplacer les hormones stéroïdes de leurs protéines de transport sériques (Jones et coll., 2003). C'est particulièrement le cas, de façon étonnante, pour la cortisone et dans une moindre mesure pour les œstrogènes et la testostérone. En outre, le PFOS se fixe fortement à la BSA et sur d'autres albumines avec des concentrations saturantes de 50-100 mg/l. En conclusion, si l'étude de Ishibashi et coll. (2008) suggère un effet direct de certains PFC sur un ER $\alpha$  de poisson, ceci reste à confirmer avec d'autres méthodes et sur d'autres espèces.

De nombreuses études suggèrent, en cohérence avec ce qui a été montré chez les rongeurs, un effet via les PPAR, notamment PPAR $\alpha$ . Dans une étude récente sur le medaka, Yang (2010) a montré que le PFOA n'induisait pas d'effet sur la taille de la gonade mâle mais induisait une augmentation de l'activité de l'acyl-CoA oxydase peroxysomale et de la catalase ainsi qu'une augmentation de l'expression de PPAR $\alpha$ . Des effets sur l'expression des cytokines inflammatoires (IL6, IL1 $\beta$ , TNF $\alpha$ ), compatibles avec un effet via PPAR $\alpha$ , ont également été observés. Chez le saumon, une induction de l'expression des PPARs  $\alpha$ ,  $\beta$  et  $\gamma$  et de l'acyl-CoA oxydase par des doses de 6 mg/l de PFOS a été mise en évidence, ce qui renforce l'idée d'une modulation de ces récepteurs (Vatland et coll., 2008). Des effets similaires ont été observés chez plusieurs espèces de poissons (Oakes et coll., 2005) et notamment chez *Gobiocypris rarus* où il semble que ce soit PPAR $\gamma$  dont l'expression soit le plus induite par le PFOA (Liu et coll., 2009b ; Fang et coll., 2010). Plusieurs PPAR de poissons ont été clonés, notamment ceux de la plie (*Pleuronectes platessa*) et de la daurade (*Sparus auratus*). La caractérisation de ces PPAR montre que PPAR $\gamma$  a un patron d'expression plus étendu que ce qui

est connu chez les mammifères et surtout que sa pharmacologie est différente de celle des mammifères : de fait, aucun des ligands PPAR $\gamma$  sélectif connu n'active les PPAR de poissons (Leaver et coll., 2005). Ceci suggère que la transposition aux poissons des résultats concernant les effets des PFC chez les mammifères doit se faire avec précaution.

L'équipe de Bingsheng Zhou a publié plusieurs études établissant un lien entre le traitement au PFOS et la voie de signalisation des hormones thyroïdiennes. En observant toute une gamme d'effets phénotypiques après traitement d'embryons de zebrafish à des doses de 0,1 à 1 mg/l, ces auteurs ont observé une augmentation de l'expression de *pax8* et *hhex*, deux gènes cruciaux pour le développement de la glande thyroïde (Shi et coll., 2008). Curieusement pour *pax8*, ces effets n'ont pas été observés à des doses plus fortes. Ceci suggère que le PFOS induit une différenciation de la glande thyroïde à des stades précoces chez l'embryon de zebrafish. Une étude plus récente a mis en évidence des effets complexes de PFOS (100 ou 200  $\mu\text{g/l}$ ) sur l'ensemble de l'axe hypothalamo-hypophysio-thyroïdien (Shi et coll., 2009). Une diminution de l'expression de certains gènes comme TSH, thyroglobuline, TTR ou TR $\alpha$  a été observée alors que d'autres gènes comme le CRE, les diiodinases 1, le transporteur NIS ou TR $\beta$  voient leur expression augmenter. Le taux de T4 n'est pas modifié chez ces poissons mais celui de T3 est augmenté, ce qui est compatible avec une activation de cette voie. Il reste à déterminer plus précisément si ces effets sont liés à une modulation directe d'un des acteurs de la voie thyroïdienne par les PFC.

## Relation structure-fonction, études *in silico*

Au cours de ces dernières années, des articles sont apparus dans la littérature concernant l'étude de la toxicité des composés perfluorés par des méthodes SAR et QSAR. Les méthodes QSAR ont été en particulier appliquées à la modélisation de la toxicité sur deux espèces de rongeur, utilisant comme « endpoints » des données d'inhalation (LC<sub>50</sub>, Bhatarai et Grammatica, 2010), et à la modélisation des effets biologiques des PFC sur les cellules du carcinome du côlon (Kleszczynski et coll., 2007).

Il ne semble pas exister dans la littérature d'études dédiées aux relations entre la structure des PFC et leurs interactions avec les récepteurs endocriniens. Cette absence d'études pourrait être attribuée à la difficulté de trouver des bases de données expérimentales fiables sur les effets neurotoxiques et reprotoxiques.

**En conclusion**, si chez les poissons, trois voies de signalisation dépendant de la famille des récepteurs nucléaires des œstrogènes, des hormones thyroïdiennes et des PPAR ont été associées aux effets de PFC, chez l'Homme, les cibles principales semblent être les PPAR et parmi eux, PPAR $\alpha$  et PPAR $\gamma$ . Il est encore trop tôt pour préciser les relations structure-activité de ces molécules.

## BIBLIOGRAPHIE

BHATARAI B, GRAMMATICA P. Per- and polyfluoro toxicity (LC50 inhalation) study in rat and mouse using QSAR modeling. *Chem Res Toxicol* 2010, **23** : 528-539

BJORK JA, WALLACE KB. Structure-activity relationships and human relevance for perfluoroalkyl acid-induced transcriptional activation of peroxisome proliferation in liver cell cultures. *Toxicol Sci* 2009, **111** : 89-99

CHENG X, KLAASSEN CD. Perfluorocarboxylic acids induce cytochrome P450 enzymes in mouse liver through activation of PPAR-alpha and CAR transcription factors. *Toxicol Sci* 2008, **106** : 29-36

FANG X, WEI Y, LIU Y, WANG J, DAI J. The identification of apolipoprotein genes in rare minnow (*Gobiocypris rarus*) and their expression following perfluorooctanoic acid exposure. *Comp Biochem Physiol C Toxicol Pharmacol* 2010, **151** : 152-159

FOREMAN JE, CHANG SC, EHRESMAN DJ, BUTENHOFF JL, ANDERSON CR, et coll. Differential hepatic effects of perfluorobutyrate mediated by mouse and human PPAR-alpha. *Toxicol Sci* 2009, **110** : 204-211

ISHIBASHI H, YAMAUCHI R, MATSUOKA M, KIM JW, HIRANO M, et coll. Fluorotelomer alcohols induce hepatic vitellogenin through activation of the estrogen receptor in male medaka (*Oryzias latipes*). *Chemosphere* 2008, **71** : 1853-1859

JONES PD, HU W, DE COEN W, NEWSTED JL, GIESY JP. Binding of perfluorinated fatty acids to serum proteins. *Environ Toxicol Chem* 2003, **22** : 2639-2649

KLESZCZYNSKI K, GARDZIELEWSKI P, MULKIEWICZ E, STEPNOWSKI P, SKŁADANOWSKI A. Analysis of structure-cytotoxicity in vitro relationship (SAR) for perfluorinated carboxylic acids. *Toxicology in Vitro* 2007, **21** : 1206-1211

LEAVER MJ, BOUKOUVALA E, ANTONOPOULOU E, DIEZ A, FAVRE-KREY L, et coll. Three peroxisome proliferator-activated receptor isotypes from each of two species of marine fish. *Endocrinology* 2005, **146** : 3150-3162

LIU C, DU Y, ZHOU B. Evaluation of estrogenic activities and mechanism of action of perfluorinated chemicals determined by vitellogenin induction in primary cultured tilapia hepatocytes. *Aquat Toxicol* 2007, **85** : 267-277

LIU C, YU L, DENG J, LAM PK, WU RS, ZHOU B. Waterborne exposure to fluorotelomer alcohol 6:2 FTOH alters plasma sex hormone and gene transcription in the hypothalamic-pituitary-gonadal (HPG) axis of zebrafish. *Aquat Toxicol* 2009a, **93** : 131-137

LIU Y, WANG J, LIU Y, ZHANG H, XU M, DAI J. Expression of a novel cytochrome P450 4T gene in rare minnow (*Gobiocypris rarus*) following perfluorooctanoic acid exposure. *Comp Biochem Physiol C Toxicol Pharmacol* 2009b, **150** : 57-64

OAKES KD, SIBLEY PK, MARTIN JW, MACLEAN DD, SOLOMON KR, et coll. Short-term exposures of fish to perfluorooctane sulfonate: acute effects on fatty acyl-coa oxidase activity, oxidative stress, and circulating sex steroids. *Environ Toxicol Chem.* 2005, **24** : 1172-1181

ROSEN MB, ABBOTT BD, WOLF DC, CORTON JC, WOOD CR, et coll. Gene profiling in the livers of wild-type and PPARalpha-null mice exposed to perfluorooctanoic acid. *Toxicol Pathol* 2008, **36** : 592-607

SHI X, DU Y, LAM PKS, WU RSS, ZHOU B. Developmental toxicity and alteration of gene expression in zebrafish embryos exposed to PFOS. *Tox Applied Pharmacol* 2008, **230** : 23-32

SHI X, LIU C, WU G, ZHOU B. Waterborne exposure to PFOS causes disruption of the hypothalamus-pituitary-thyroid axis in zebrafish larvae. *Chemosphere* 2009, **77** : 1010-1018. Erratum in : *Chemosphere* 2010, **81** : 821

SHIPLEY JM, HURST CH, TANAKA SS, DEROOS FL, BUTENHOFF JL, et coll. Trans-activation of PPARalpha and induction of PPARalpha target genes by perfluorooctane-based chemicals. *Toxicol Sci* 2004, **80** : 151-160

TAKACS ML, ABBOTT BD. Activation of mouse and human peroxisome proliferator-activated receptors (alpha, beta/delta, gamma) by perfluorooctanoic acid and perfluorooctane sulfonate. *Toxicol Sci* 2007, **95** : 108-117

VANDEN HEUVEL JP, THOMPSON JT, FRAME SR, GILLIES PJ. Differential activation of nuclear receptors by perfluorinated fatty acid analogs and natural fatty acids : a comparison of human, mouse, and rat peroxisome proliferator-activated receptor-alpha, -beta, and -gamma, liver X receptor-beta, and retinoid X receptor-alpha. *Toxicol Sci* 2006, **92** : 476-489

VATLAND KRØVEL A, SØFTELAND L, TORSTENSEN B, OLSVIK PA. Transcriptional effects of PFOS in isolated hepatocytes from Atlantic salmon *Salmo salar* L. *Comp Biochem Physiol C* 2008, **148** : 14-22

WOLF CJ, TAKACS ML, SCHMID JE, LAU C, ABBOTT BD. Activation of mouse and human peroxisome proliferator-activated receptor alpha by perfluoroalkyl acids of different functional groups and chain lengths. *Toxicol Sci* 2008, **106** : 162-171

YANG JH. Perfluorooctanoic acid induces peroxisomal fatty acid oxidation and cytokine expression in the liver of male Japanese medaka (*Oryzias latipes*). *Chemosphere* 2010, **81** : 548-552

ZHAO Y, TAN YS, HASLAM SZ, YANG C. Perfluorooctanoic acid effects on steroid hormone and growth factor levels mediate stimulation of peripubertal mammary gland development in C57BL/6 mice. *Toxicol Sci* 2010, **115** : 214-224