

Journée interassociative de la Fédération Française d'Addictologie

Comparaison de la composition chimique et de la toxicité *in vitro* des aérosols de tabac chauffé, de cigarette électronique et de cigarette conventionnelle

Gianni ZARCONI

Directeur de thèse : Dr Sébastien Antherieu

ULR 4483 – IMPECS dirigée par le Dr Jean-Marc Lo Guidice

Contexte et enjeux scientifiques

LE TABAGISME

31,8% de la population française ¹

8 millions de morts par an dans le monde ²

1^{er} facteur de risque pour ³

- ✓ BPCO
- ✓ Cancer du poumon
- ✓ Maladies cardiovasculaires

SOLUTION ?

Le sevrage tabagique

Dispositifs médicaux

Les traitements nicotiques de substitution



Alternatives moins nocives ?

Les cigarettes électroniques (e-cigarettes)

Le tabac chauffé

Principale cause de décès évitables



La cigarette électronique

1^{ère} Génération



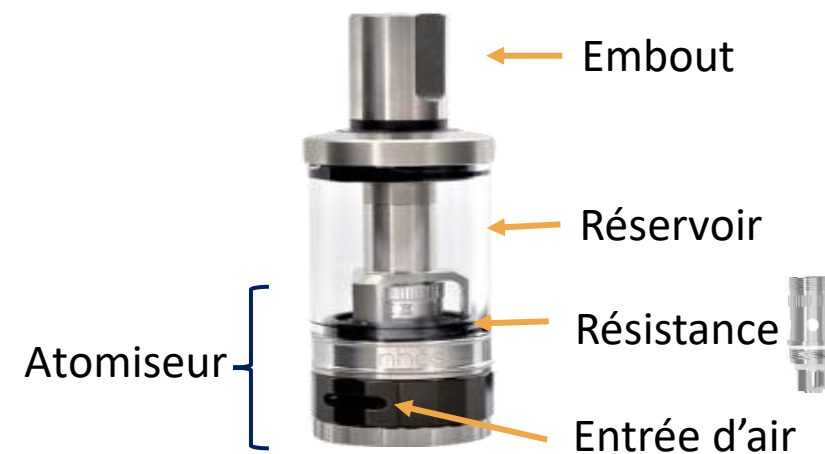
2^{ème} Génération



3^{ème} Génération



E-liquide
Propylène glycol – glycérol
+/- nicotine + arôme



Traces de composés (potentiellement) nocifs ²

5,4% de consommateurs en France ¹

Composés carbonylés

HAPs

Métaux

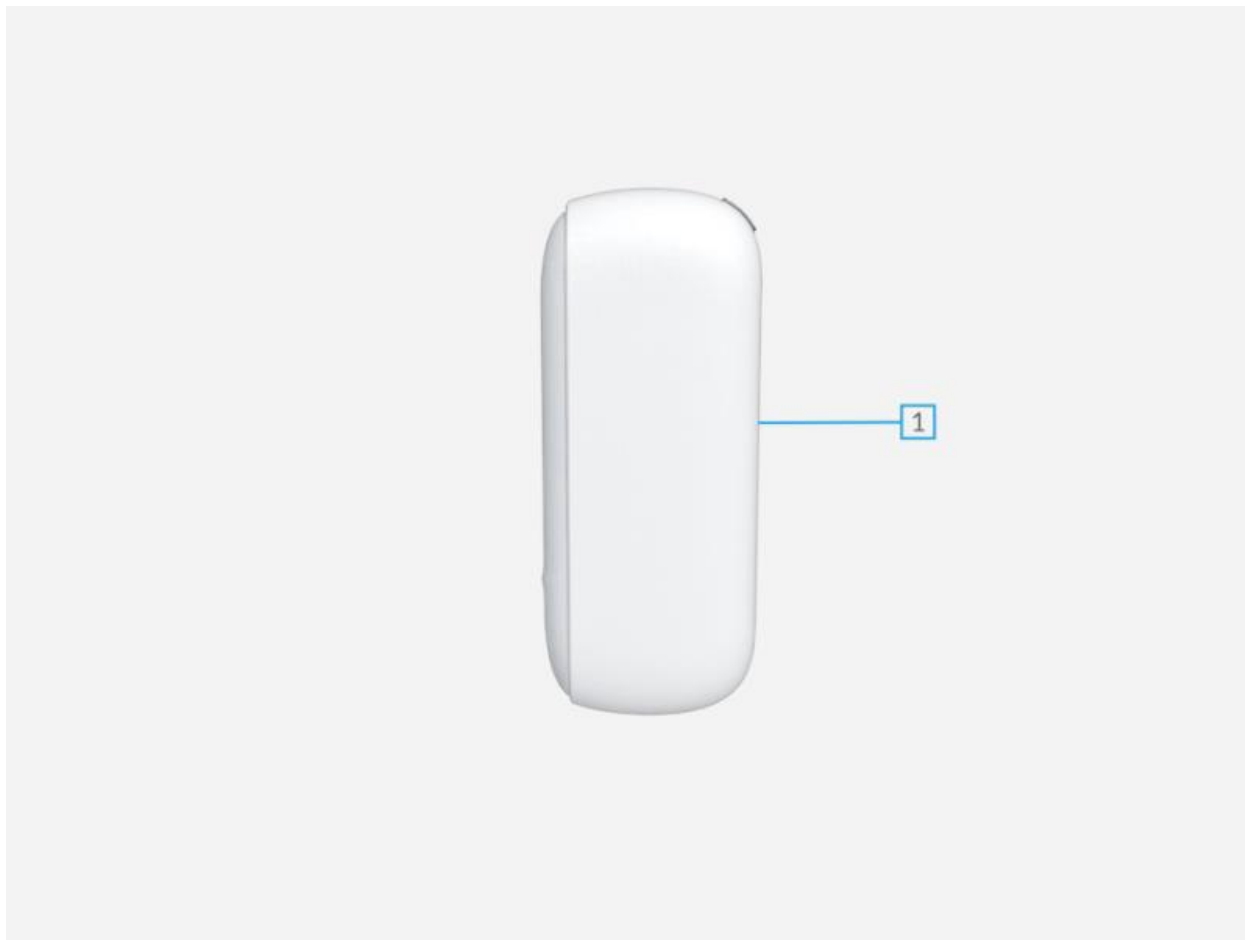


Peu d'études toxicologiques sur les modèles de 3^{ème} génération

1 Pasquereau et al., 2020 ; 2 Bonner et al., 2021

Tabac chauffé ou Heated Tobacco Products (HTP)

Systeme IQOS® (Philip Morris)



<https://www.pmiscience.com/fr/our-products/platform1>

~ 14,9 millions de consommateurs dans le monde¹

Commercialisé en France en 2017



Stick (tabac + glycérol)

+

Lame chauffante $\leq 350^{\circ}\text{C}$



Production d'un aérosol

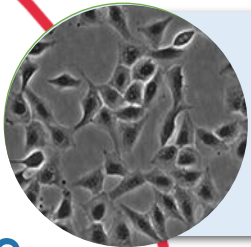
Peu d'études indépendantes sur la toxicité de ce dispositif et de comparaison avec l'e-cig

¹ <https://www.pmi.com/smoke-free-products>

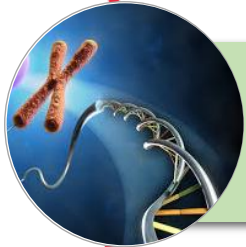
Problématique de la thèse

Comparer la composition chimique et la toxicité in vitro (lignée BEAS-2B) des aérosols de tabac chauffé, de cigarette électronique et de cigarette conventionnelle

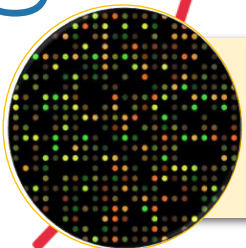
Objectifs



Caractériser chimiquement les aérosols



Etudier la cytotoxicité et les effets génotoxiques et épigénétiques dans la lignée cellulaire BEAS-2B



Identifier des voies de signalisation associées à la toxicité de chaque dispositif (analyses transcriptomiques)

Matériels et méthodes

Profils de bouffée

Exposition des cellules

	Health Canada Intense (HCI)
Volume	55 ml
Durée	2 s
Fréquence	2 bouffées/min
Particularité e-cig	- Inclinaison 45° - Activation 1 s avant bouffée

HTP **E-cig**



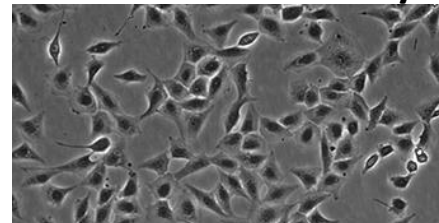
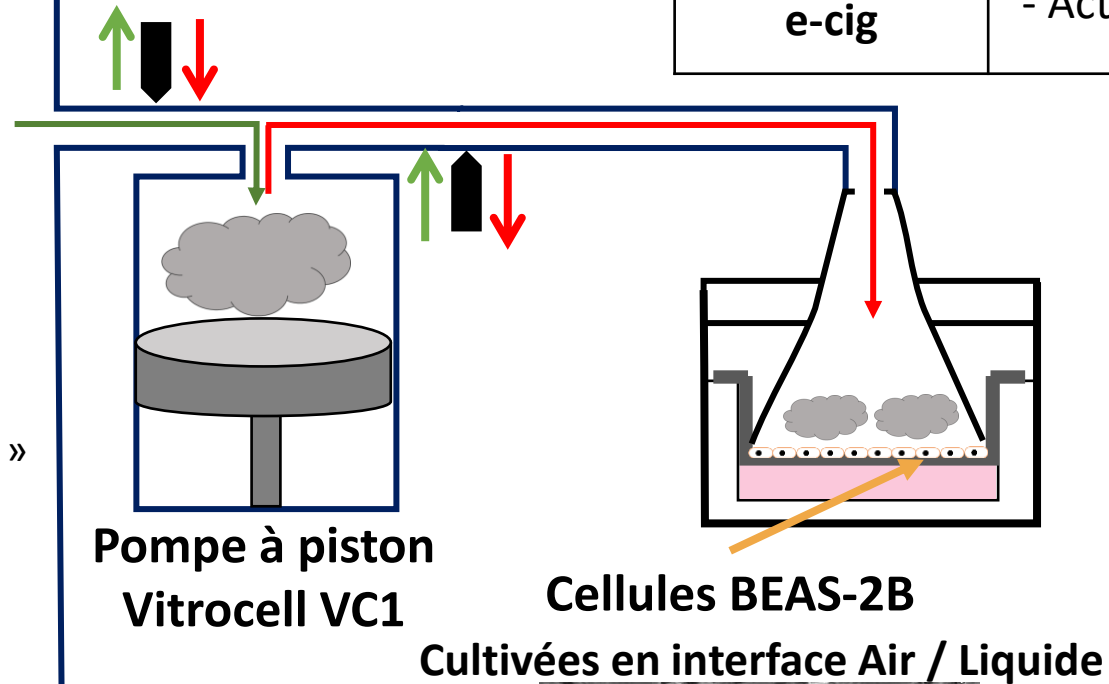
IQOS Modbox (Mb)
18W et 30W
0.5Ω



E-liquide « Tabac blond »
16 mg/mL de nicotine



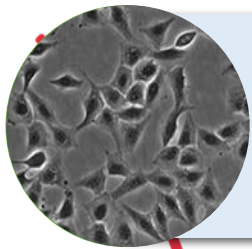
3R4F cigarette



Problématique de la thèse

Comparer la composition chimique et la toxicité in vitro (lignée BEAS-2B) des aérosols de tabac chauffé, de cigarette électronique et de cigarette conventionnelle

Objectifs



Caractériser chimiquement les aérosols

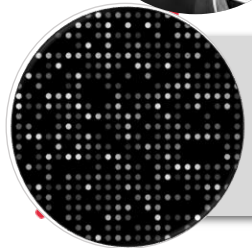
Composés
carbonylés

Hydrocarbures Aromatiques
Polycycliques

Nicotine

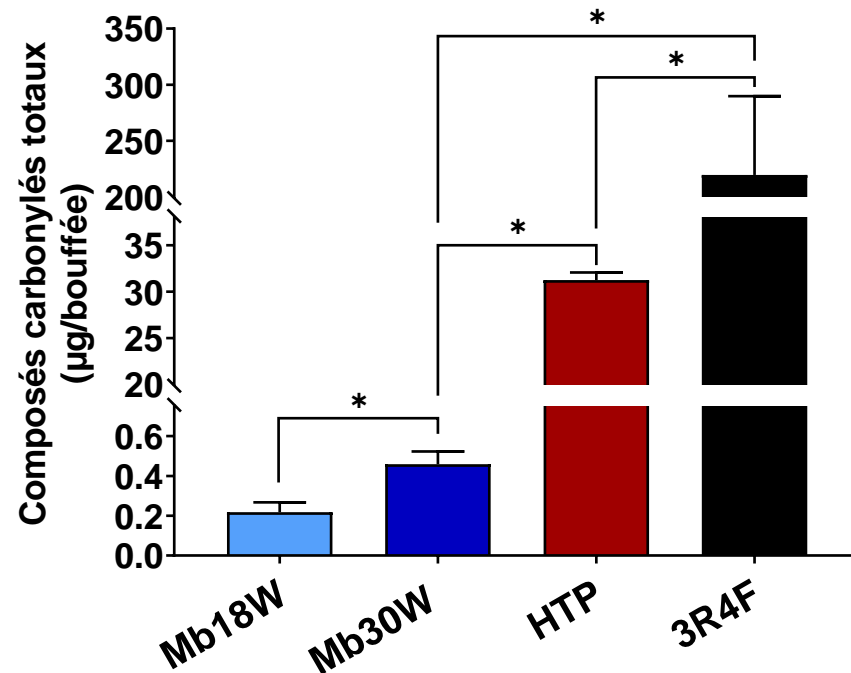


Etudier la cytotoxicité et les effets génotoxiques et épigénétiques dans la lignée cellulaire BEAS-2B

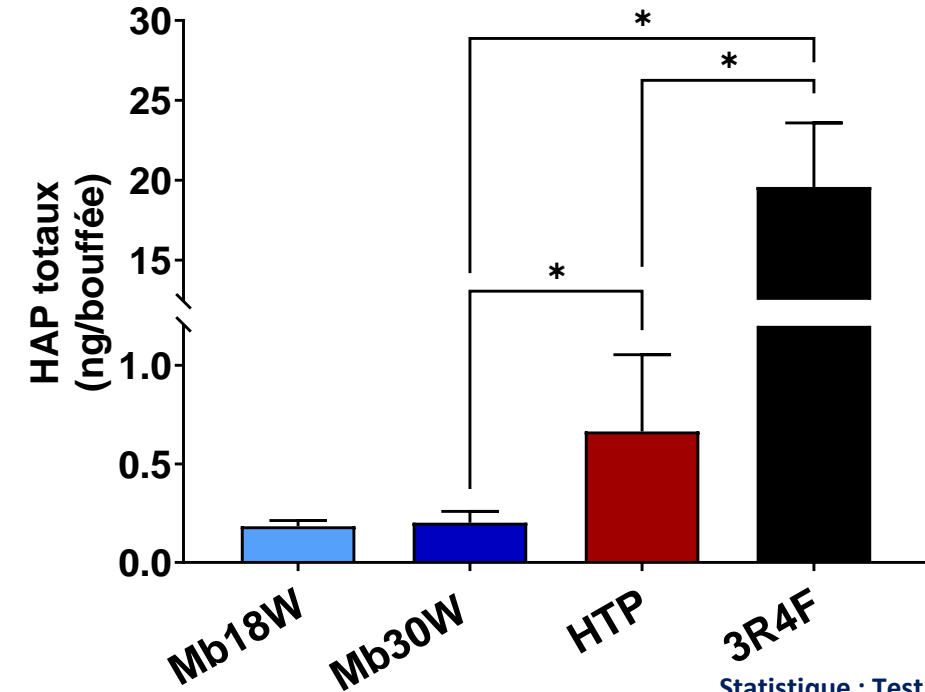


Identifier des voies de signalisation associées à la toxicité de chaque dispositif (analyses transcriptomiques)

Composés carbonylés n=4



Hydrocarbures Aromatiques Polycycliques n=4



Statistique : Test de Mann Whitney
* P < 0,05

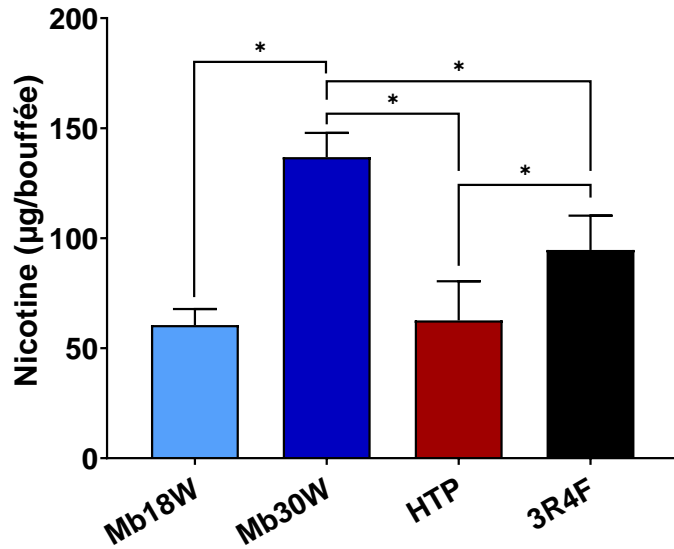
3R4F > HTP > e-cig

Mb30W > Mb18W pour composés carbonylés

- ➔ HTP et 3R4F : Acétaldéhyde, acétone qui proviennent de la combustion du tabac
- ➔ E-cig : Acétaldéhyde et formaldéhyde qui proviennent du PG/G
- ➔ HAP issus de la combustion : 3R4F +++

Nicotine

Nicotine n=4



Statistique : Test de Mann Whitney
* p < 0,05

Quantité de nicotine dans les aérosols :

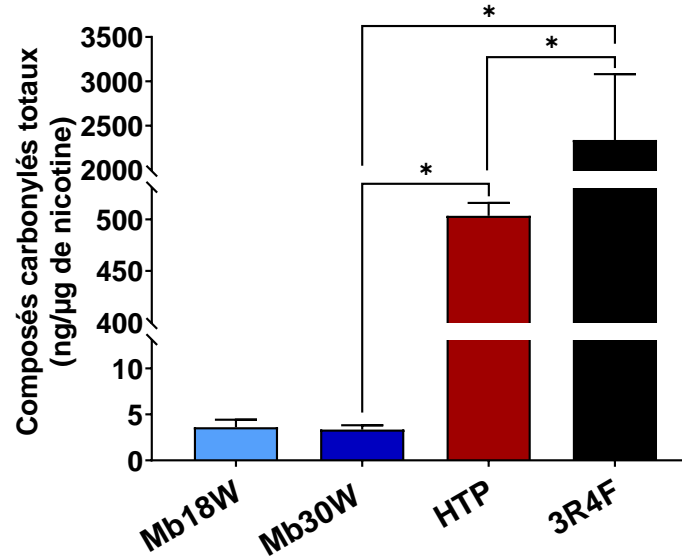
Mb30W > 3R4F > HTP = Mb18W

Comparaison des dispositifs ?

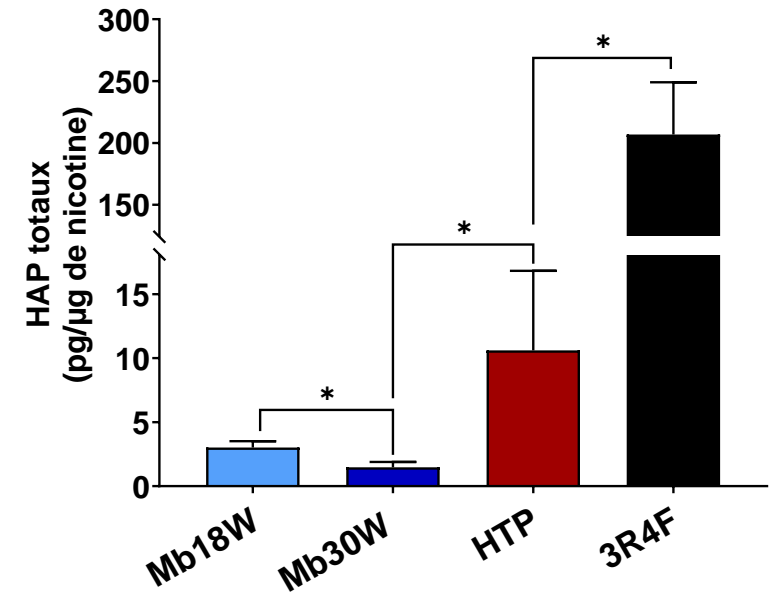
Utilisateurs s'auto-régulent par l'apport en nicotine ^{1,2} → satisfaction

→ Normalisation des composés toxiques par la quantité de nicotine/bouffée

Composés carbonylés



HAP

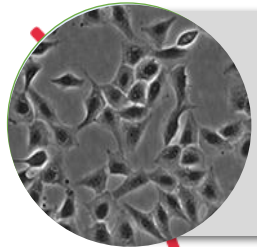


→ Classement par rapport aux composés reste similaire

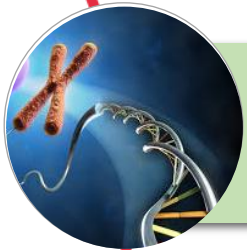
Problématique de la thèse

Comparer la composition chimique et la toxicité in vitro (lignée BEAS-2B) des aérosols de tabac chauffé, de cigarette électronique et de cigarette conventionnelle

Objectifs



Caractériser chimiquement les aérosols



Etudier la cytotoxicité et les effets génotoxiques et épigénétiques dans la lignée cellulaire BEAS-2B

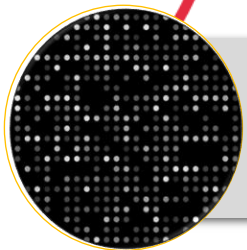
ATP intracellulaire

Test des comètes

Méthylation globale

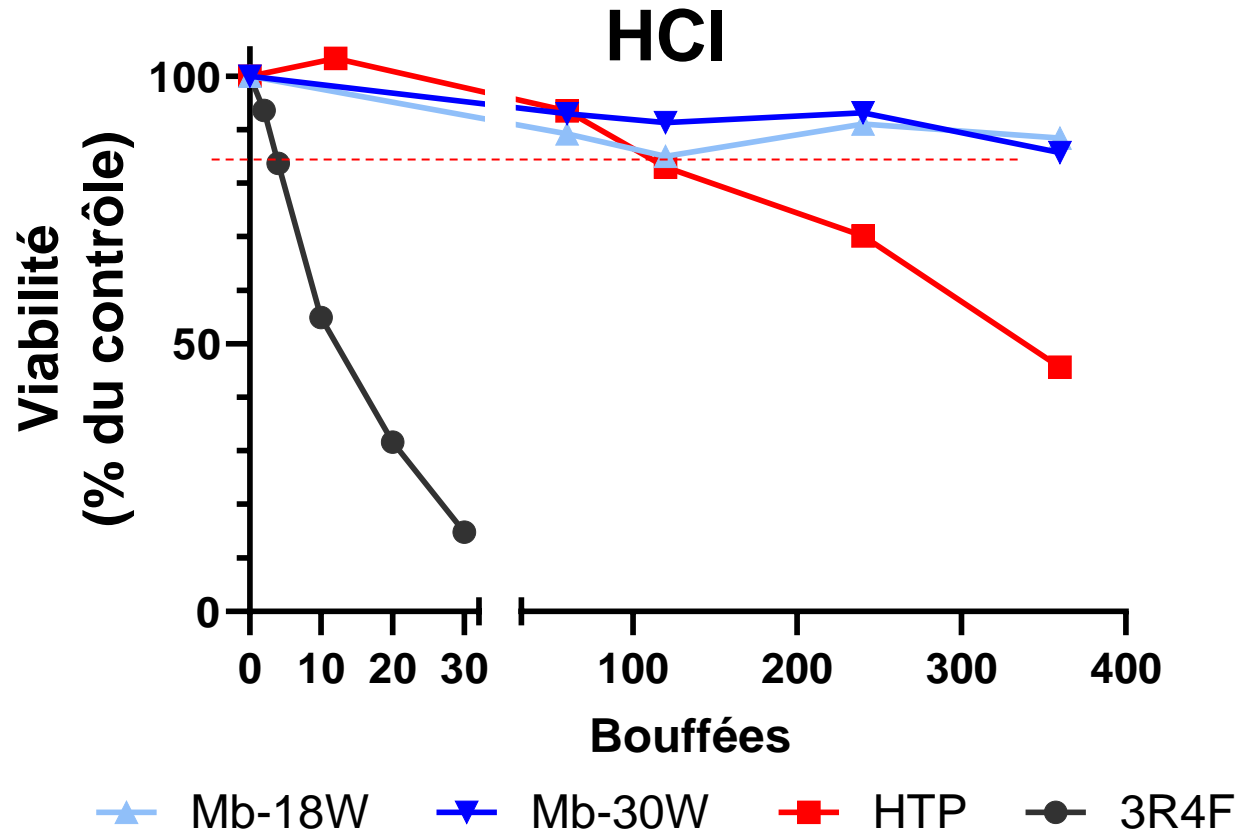
Test du micronoyau

Modification des Histones



Identifier des voies de signalisation associées à la toxicité de chaque dispositif (analyses transcriptomiques)

Test de viabilité cellulaire (Mesure de l'ATP intracellulaire)



Choix de doses subtoxiques
(85-95% de viabilité)

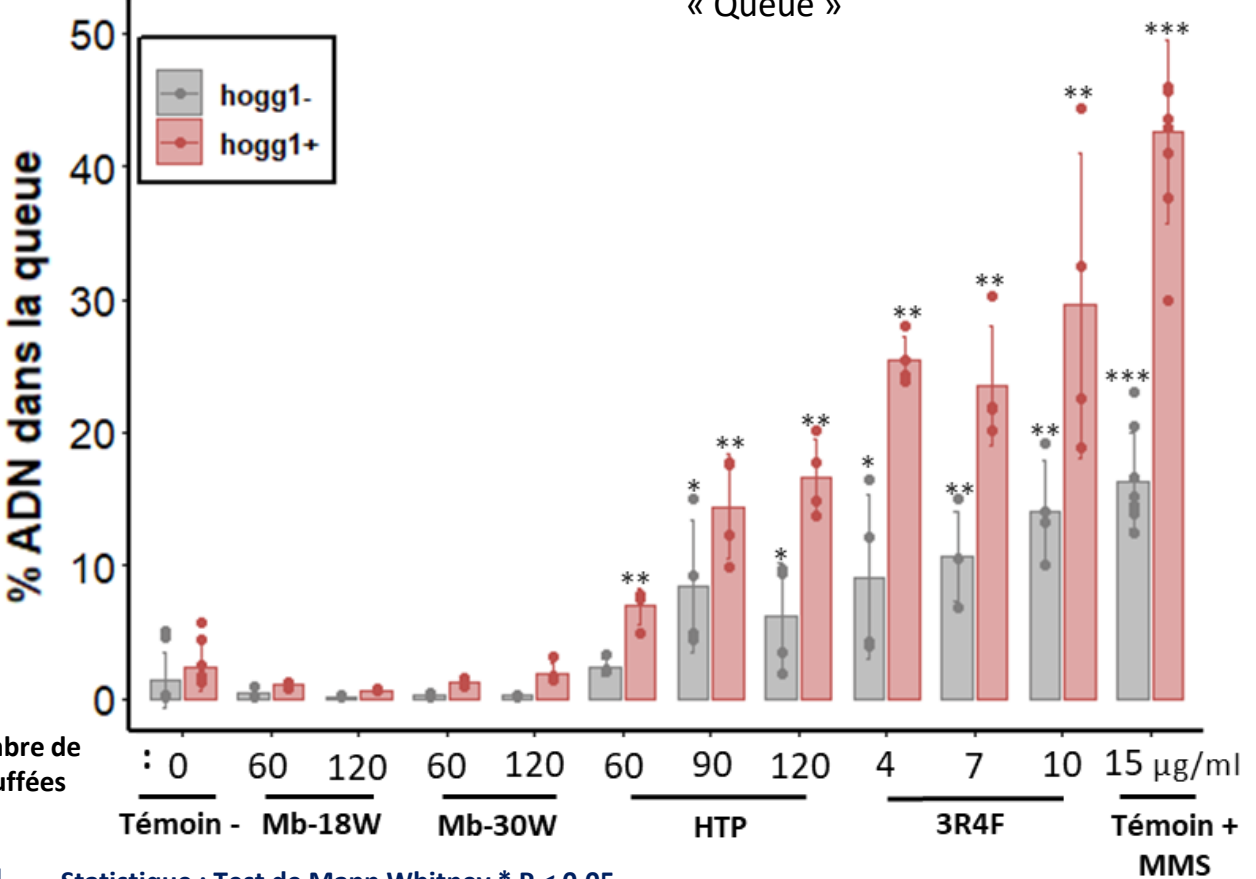
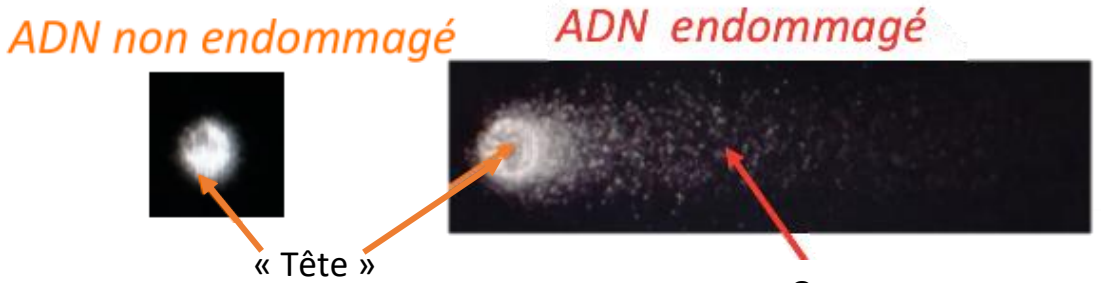
E-cig : 60 et 120 bouffées

HTP : 60 et 120 bouffées

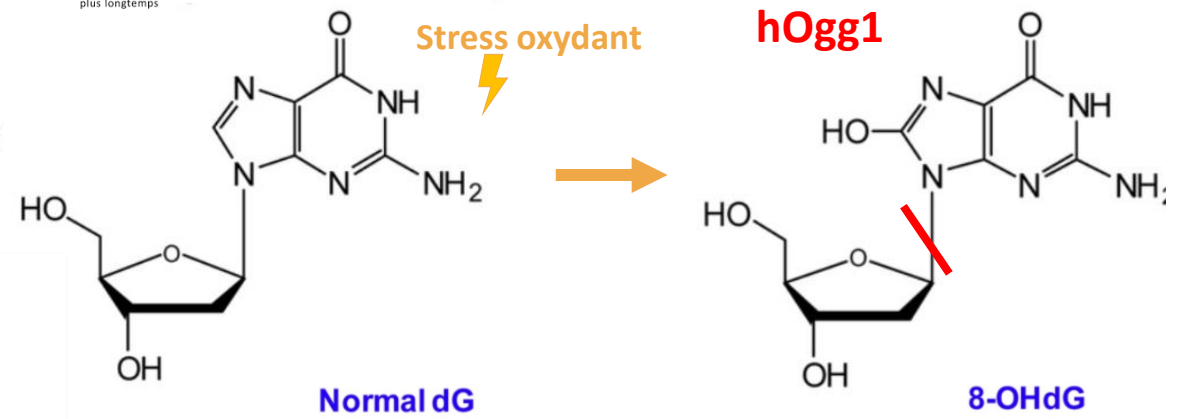
3R4F : 2 et 4 bouffées

Cigarette > HTP > E-cig

Mesure des lésions primaires de l'ADN



8-oxoguanine glycosylase (hOgg1) :
Permet ainsi de détecter spécifiquement les dommages oxydatifs de l'ADN

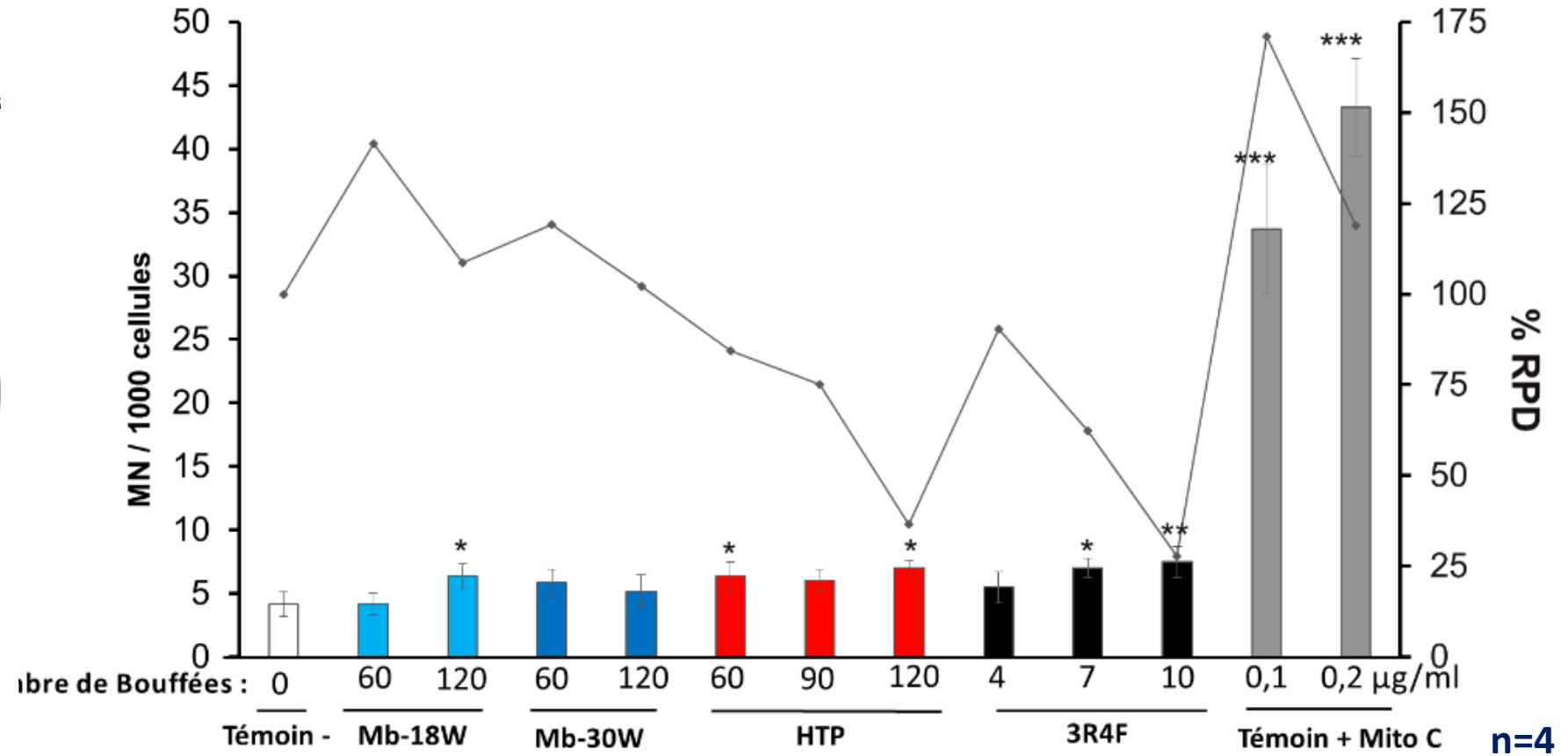
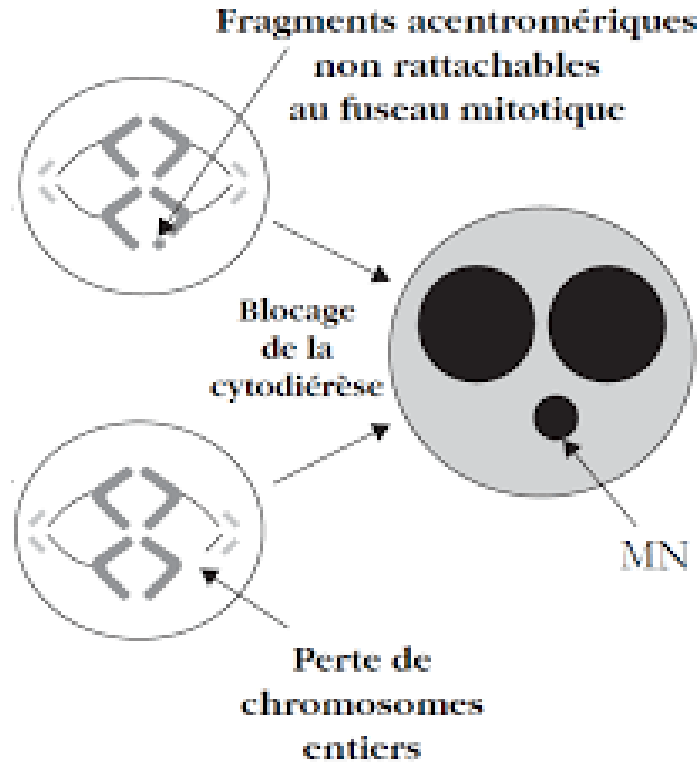


Bilan

Cigarette 3R4F > HTP > E-cig

Cassures ADN	+	+	-
Lésions oxydatives	+	+	-

Mesure des aberrations chromosomiques



Positivité du test si

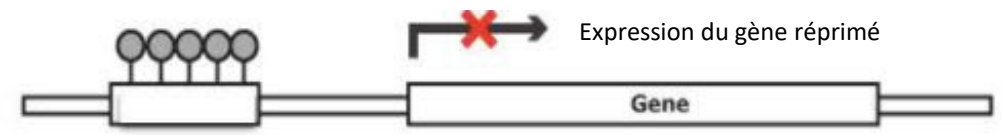
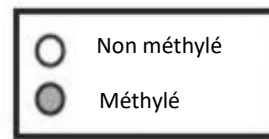
Significativité statistique

Dose réponse

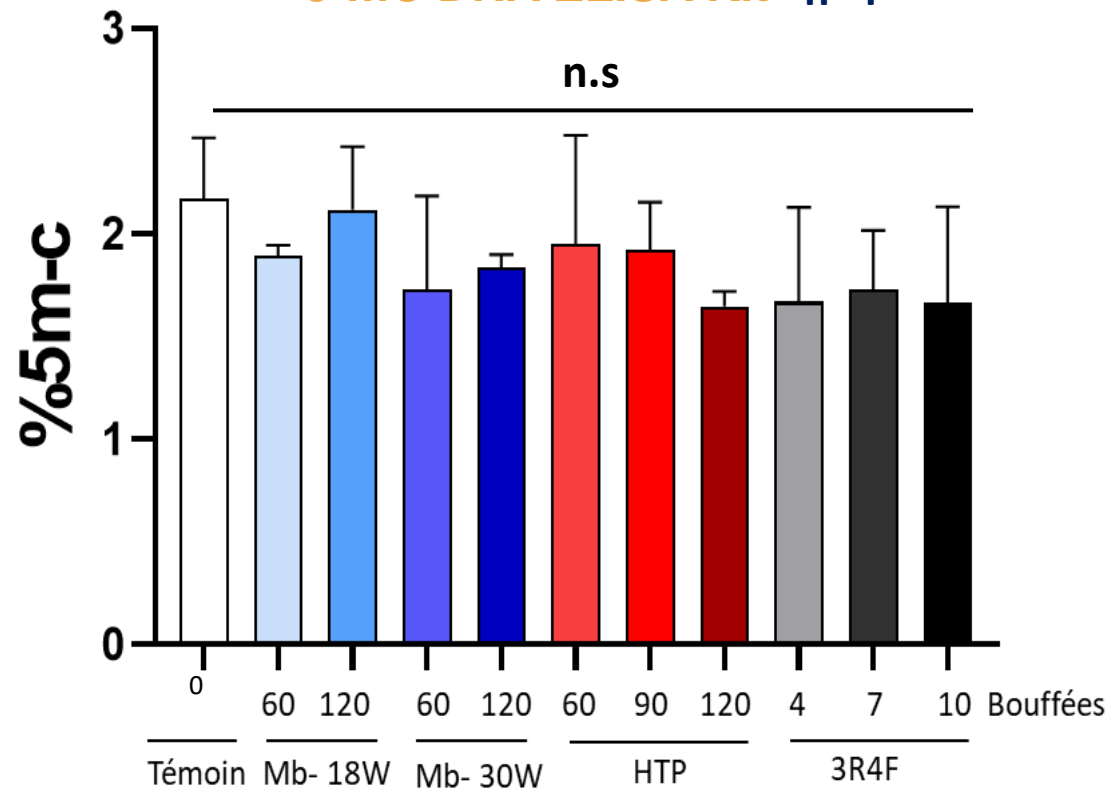
Pas d'aberration chromosomique avec les différents dispositifs

Statistique : Test de Mann Whitney
* P < 0,05

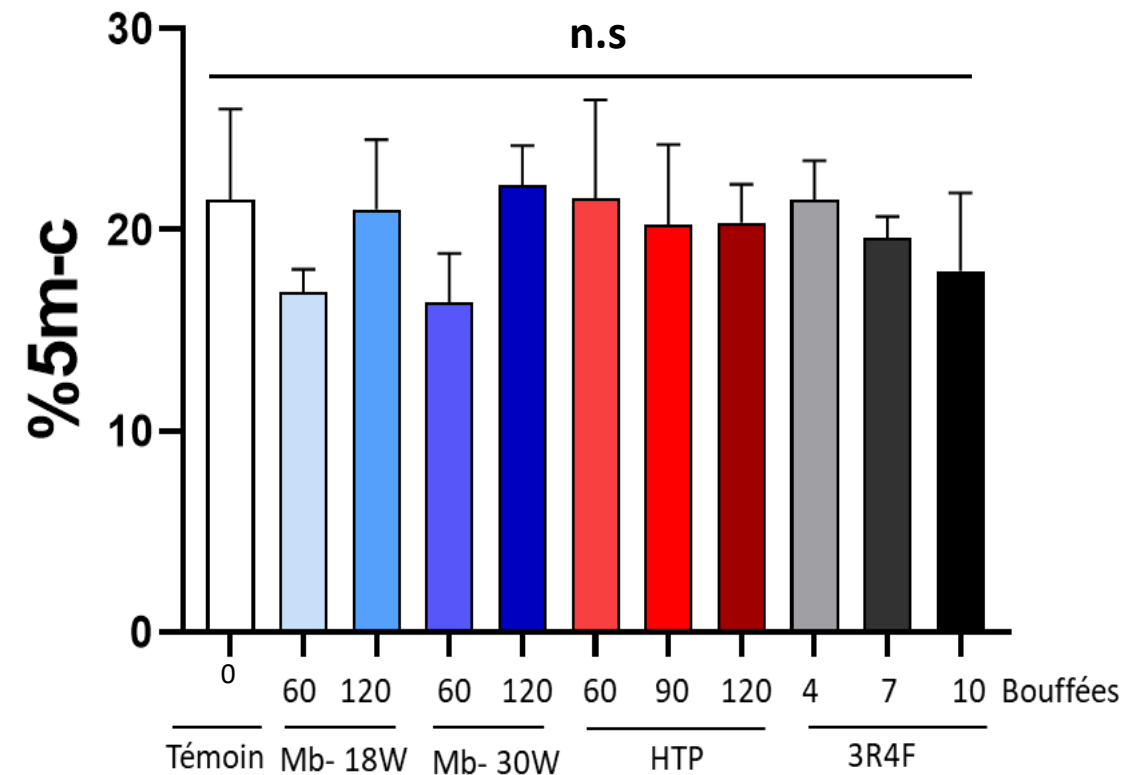
Evaluation de la méthylation globale



5-mC DNA ELISA Kit n=4



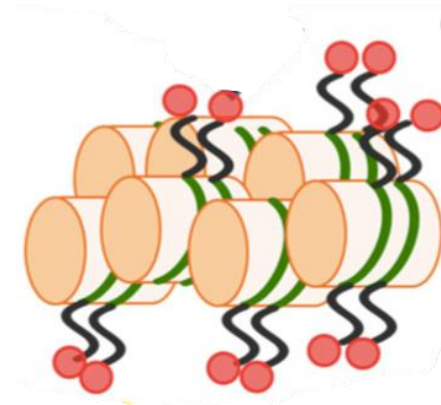
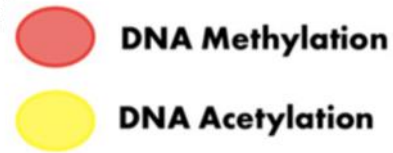
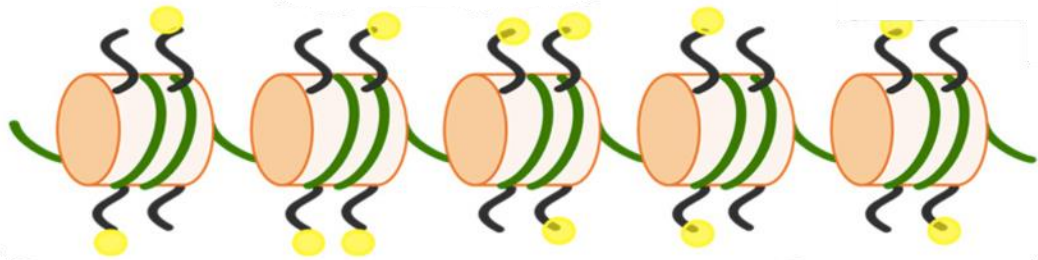
Global DNA Methylation LINE-1 n=4



Statistique : Test de Mann Whitney
* P < 0,05

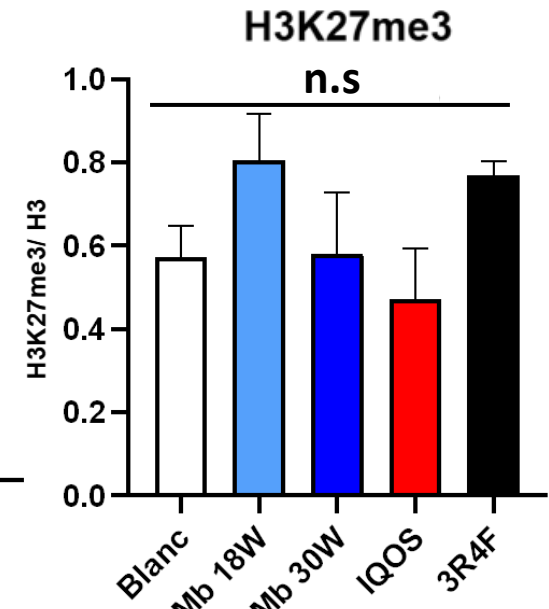
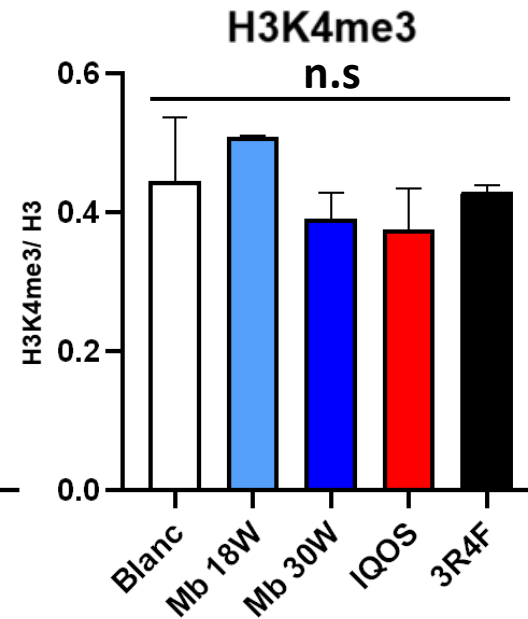
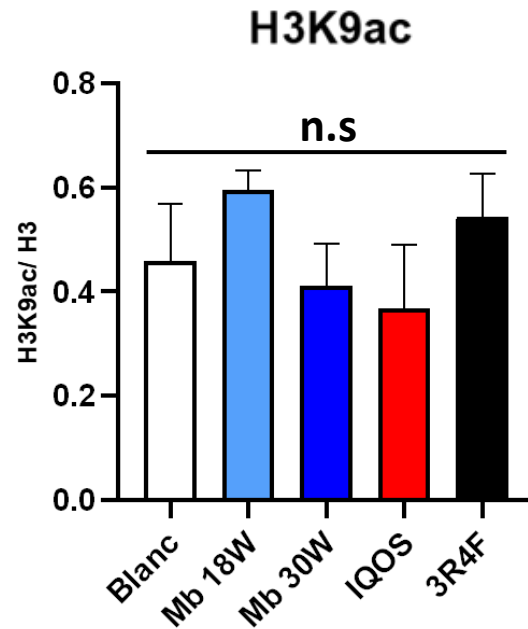
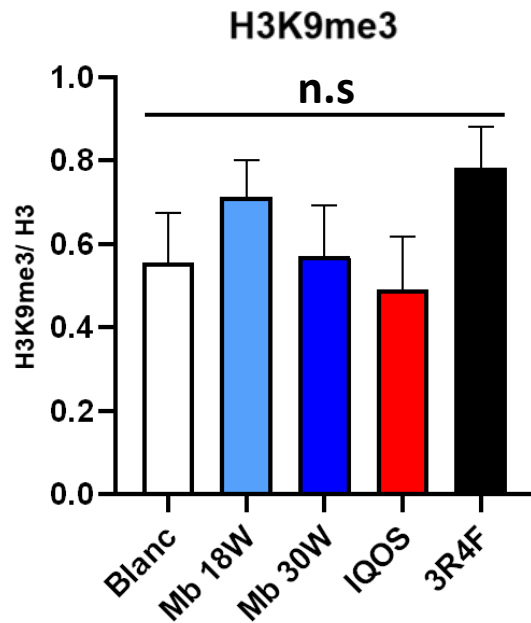
Aucun résultat significativement différent du témoin avec les différents dispositifs

Evaluation des modifications d'histones



Chromatine décondensée → Transcription

Chromatine condensée → Blocage transcription



n=3

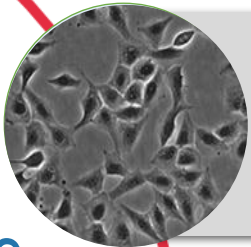
Statistique : Test de Mann Whitney
* P < 0,05

Aucun résultat significativement différent du témoin avec les différents dispositifs

Problématique de la thèse

Comparer la composition chimique et la toxicité in vitro (lignée BEAS-2B) des aérosols de tabac chauffé, de cigarette électronique et de cigarette conventionnelle

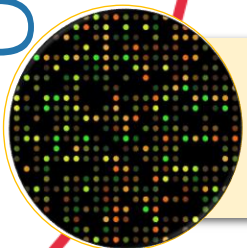
Objectifs



Caractériser chimiquement les aérosols

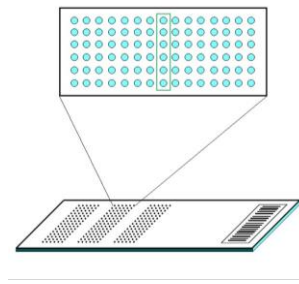


Etudier la cytotoxicité et les effets génotoxiques et épigénétiques dans la lignée cellulaire BEAS-2B

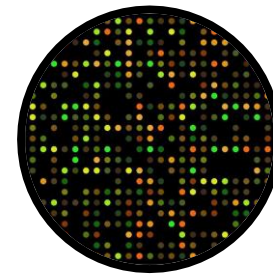


Identifier des voies de signalisation associées à la toxicité de chaque dispositif (analyses transcriptomiques)

Analyses transcriptomiques



Puce à ADN pangénomique n=4

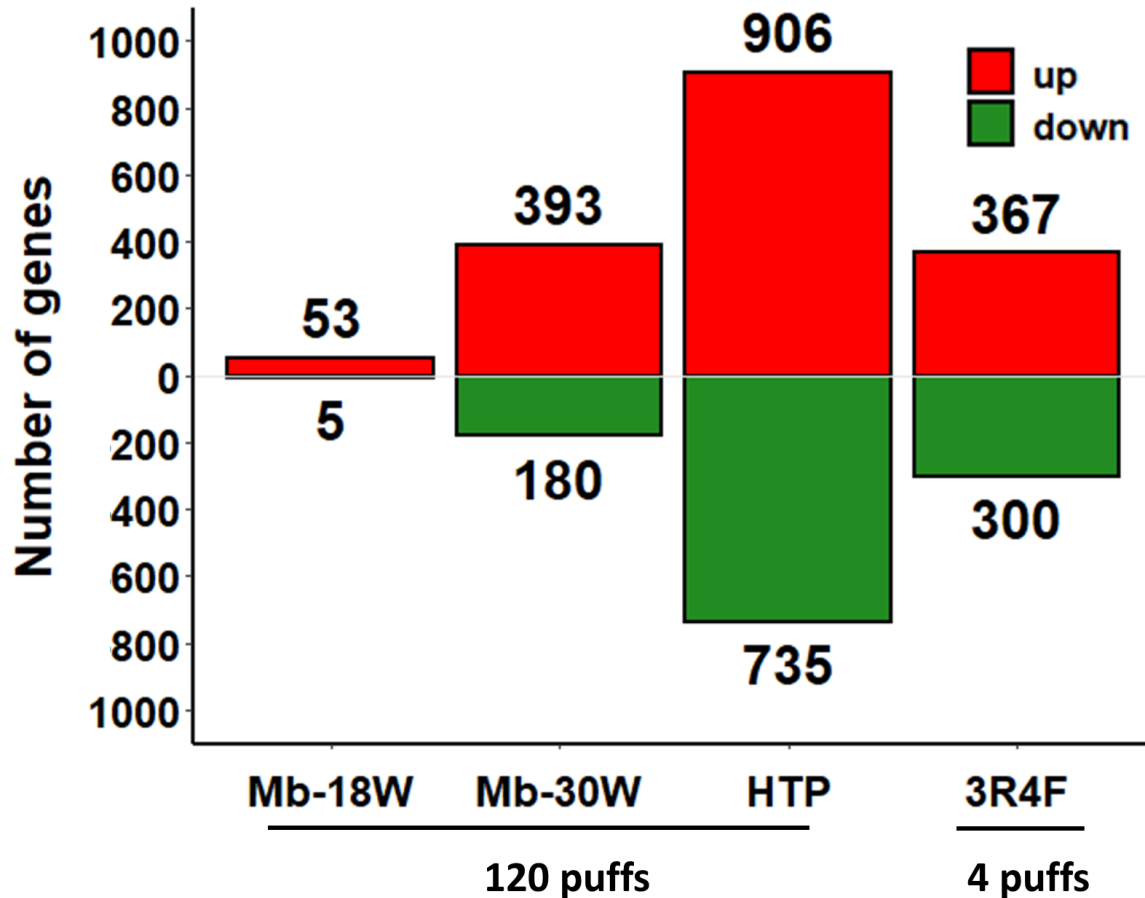


Analyse des intensités relatives



$|\text{Fold-change}| > 1,5$
 $p < 0,05$

Filtre appliqué sur les gènes



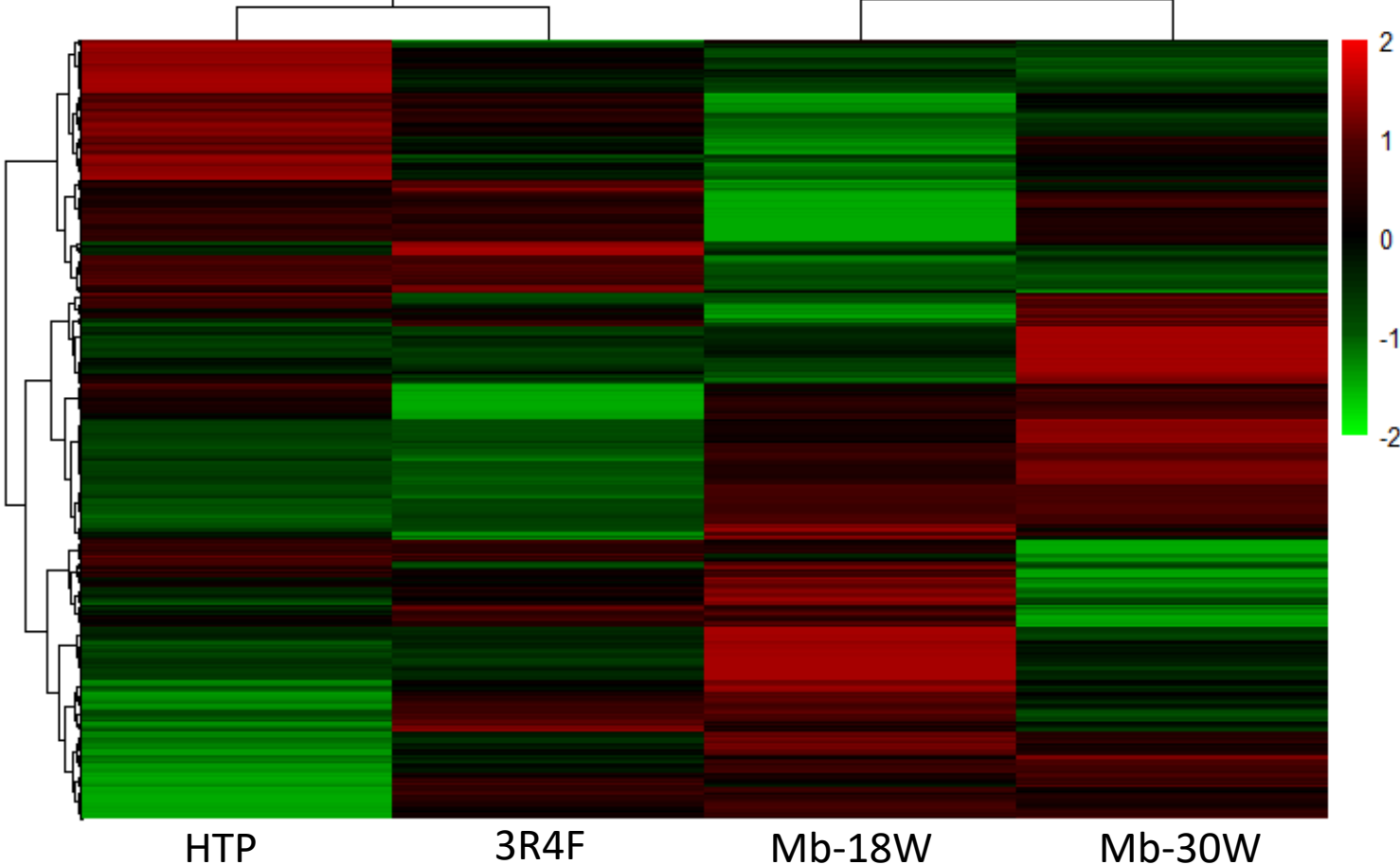
Tabac chauffé → le plus de transcrits dérégulés

La cigarette 3R4F → moins de transcrits dérégulés mais expositions 4 bouffées vs 120 bouffées du tabac chauffé

E-cig : + de transcrits dérégulés à 30W vs 18W

Regroupement selon le profil transcriptomique de chaque dispositif

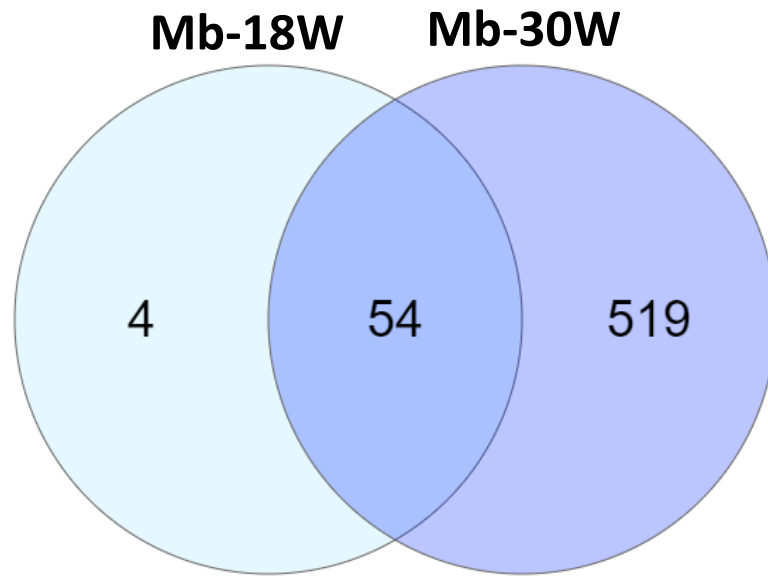
Gènes dérégulés $FC > 1.5$ $pval < 0.05$



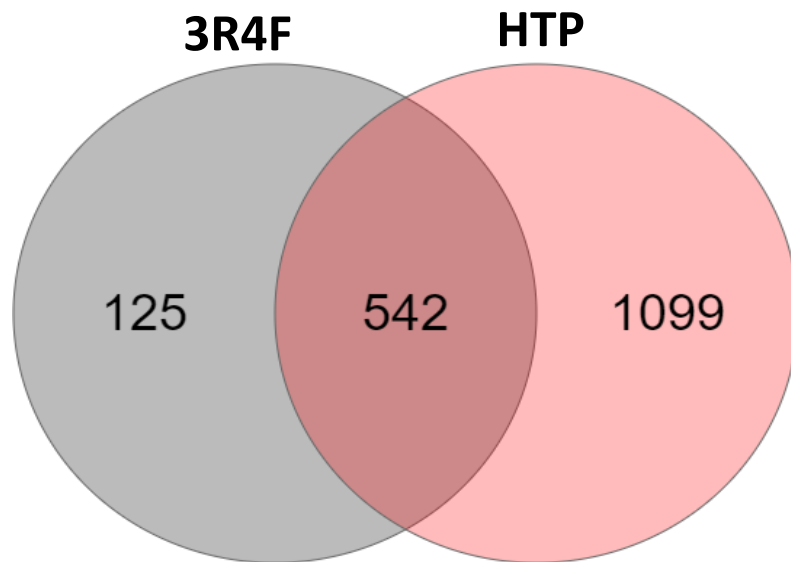
Le profil transcriptomique de HTP se rapproche de celui de la cigarette conventionnelle

Le profil transcriptomique de l'e-cig 18W se rapproche de celui de l'e-cig 30W

Comparaison des gènes dérégulés entre les dispositifs



93% des transcrits dérégulés pour la MB18W le sont aussi pour la MB30W



81% des transcrits dérégulés pour la cigarette 3R4F le sont aussi pour l'HTP

Analyse fonctionnelle via Ingenuity Pathway Analysis®

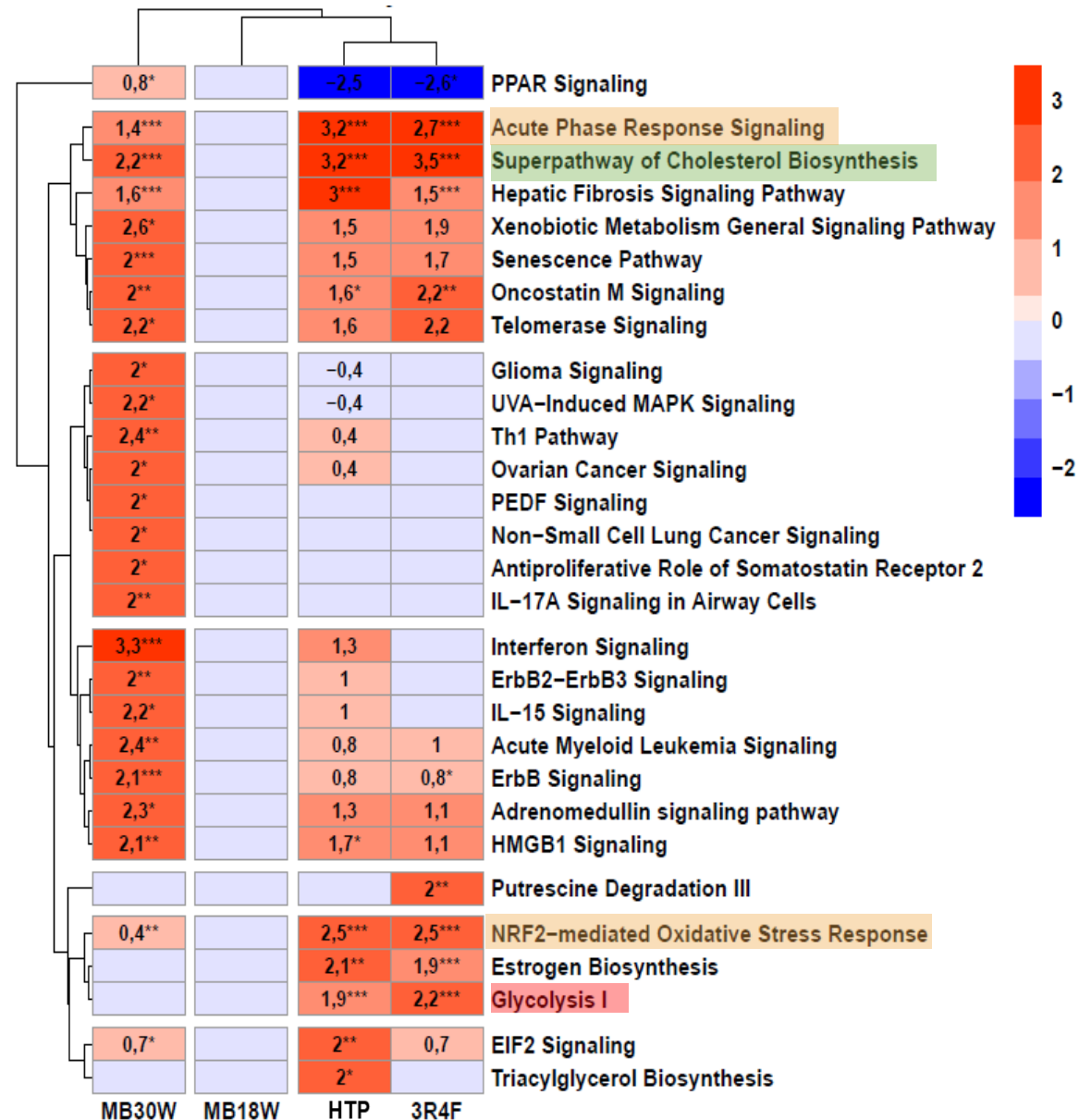
INGENUITY PATHWAY ANALYSIS

- ❖ Voies et processus significativement dérégulés
 - ❖ Z-score = prédiction d'activation ou d'inhibition d'une voie/d'un processus :
 - **Activation (> 0)**
 - **Inhibition (< 0)**
- ➔ Significatif si > 2
 < -2

Voies canoniques

Fonctions biologiques

Voies canoniques



Superpathway of Cholesterol Biosynthesis

Biosynthèse des stérols est une composante métabolique essentielle des processus de cancérogenèse

NRF2-mediated Oxidative Stress Response

Acute Phase Response Signaling

Réponse au stress oxydatif notamment avec les produits du tabac

Glycolysis I

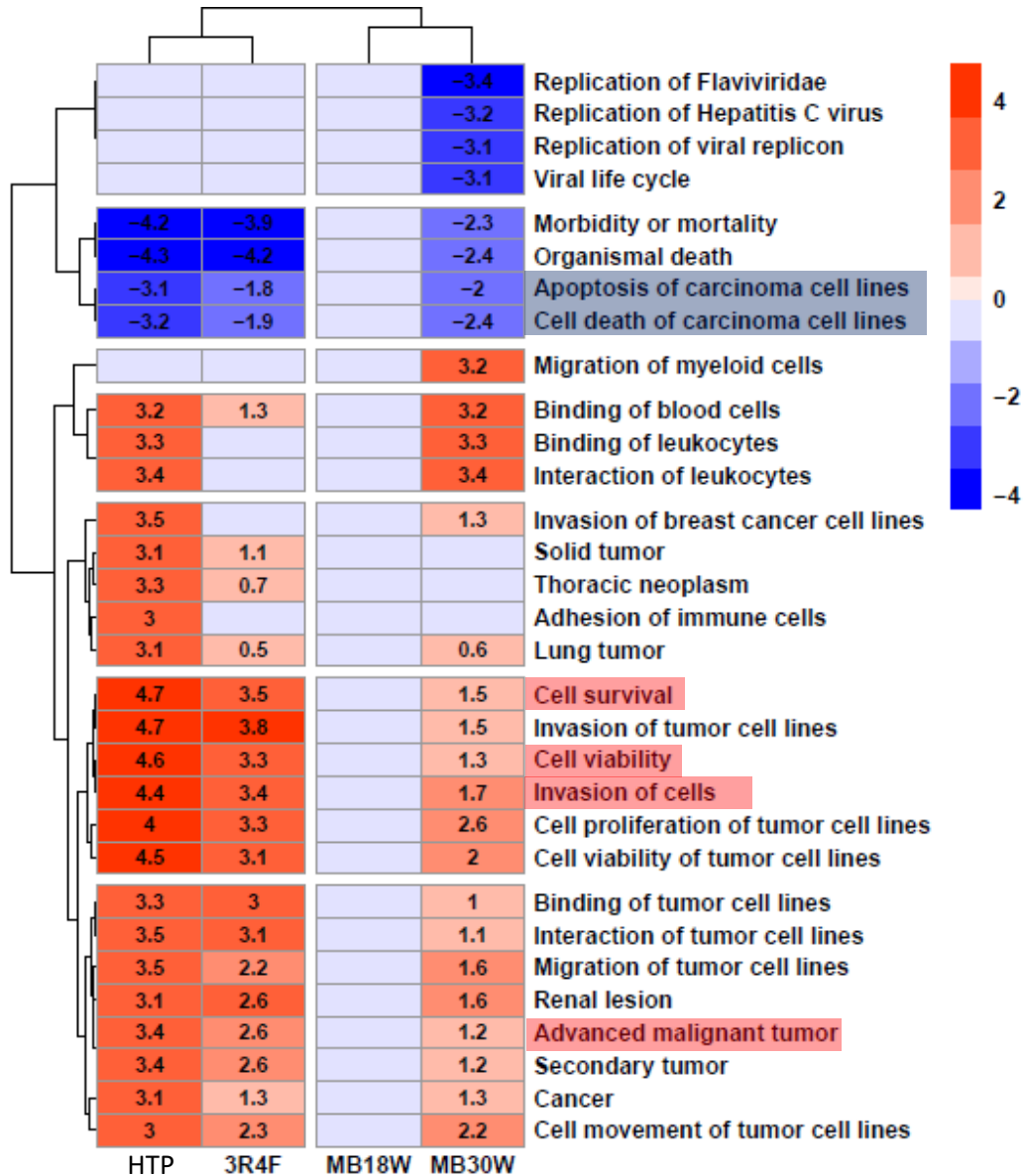
Augmentée avec les produits du tabac uniquement

→ Dysfonctionnement mitochondrial

Utilise la glycolyse pour générer de l'ATP

= Effet Warburg

Fonctions biologiques



Inhibition des voies de mort cellulaire

« Apoptosis of carcinoma cell lines »

« Cell death of carcinoma cell lines »

Activation des voies de survie, de prolifération et d'invasion cellulaire

« Invasion of cells »,

« Cell survival »,

« Advanced malignant tumor »,

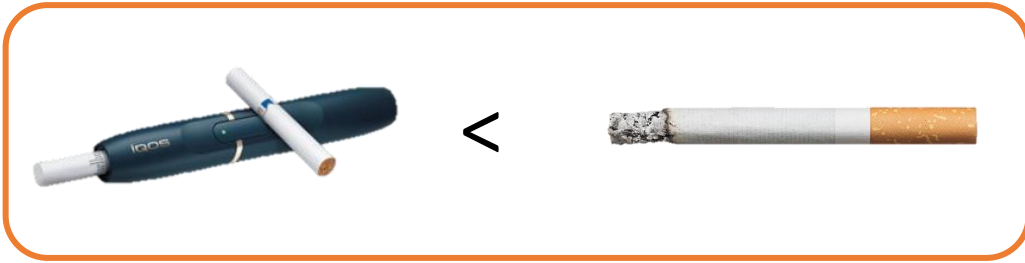
« Cell viability ».

Conclusion et Perspectives

Quantités de composés carbonylés et HAP :



<



<

Cytotoxicité

Cassures de l'ADN

Abs d'aberration chromosomique

Analyse transcriptomique :



Voies communes de cancérogenèse



Perspectives : Etude de la toxicité et du potentiel cancérogène de l'e-cig et du tabac chauffé dans un modèle murin après des expositions chroniques

Merci pour votre attention