

Les "precision-cut liver slices" : un modèle *ex-vivo* d'analyse des mycotoxines estrogéniques

Marion GAROFALO (1), Maite CORTI ISGRO (1,2), Philippe PINTON (1), Sylvie PUEL (1), Nina LE MOËL (1), Emma BILLON (1), Mickaël ALBIN (1), Damien P. PRÉVÉRAUD (3), Delphine PAYROS (1), Isabelle P. OSWALD (1), Laura SOLER (1)

(1) Toxalim-Centre de recherches en toxicologie alimentaire, INRAE, 31027 Toulouse, France

(2) Facultad de Agronomía y Veterinaria - Universidad Nacional de Río Cuarto Ruta 36 Km 601 - Córdoba - Argentine

(3) Adisseo France S.A.S., Antony, France

laura.soler-vasco@inrae.fr

Precision-cut liver slices: an *ex-vivo* model to analyse oestrogenic mycotoxins

In pigs, the liver toxicity of mycotoxins has been studied mainly *in vivo*, as no immortalized hepatocyte cell lines of porcine origin are available. In recent years, precision-cut porcine liver sections (PCLS) have been used as an alternative to *in-vivo* procedures to investigate the liver toxicity of mycotoxins. In this project, we used PCLS as a surrogate of oestrogen-responding reproductive tissues of pre-pubertal female piglets to assess the toxicity of zearalenone (ZEN), a reprotoxic mycoestrogen. ZEN toxicity is associated with its agonist interaction with the oestrogen receptor alpha. As this receptor is expressed in liver cells and its activation can regulate the expression of several genes, the liver could be a good surrogate for studying effects of ZEN in prepubertal piglets. PCLS were obtained from 6 female pigs and exposed *ex-vivo* to different concentrations of: oestrogen (10 μ M) and ZEN (3, 10, 30 and 100 μ M) or a negative control (DMSO) for 4 h. We observed that ZEN regulated several oestrogen-responsive genes, mainly at 10 and 30 μ M, including some key regulators of glucose metabolism: *GDF15*, *FGF21*, *PCK1* and *PKD4*. The results also showed that ZEN toxicity was associated with cytoplasmic vacuolation, which could indicate the accumulation of lipid droplets. Our results show that exposure to ZEN is linked with a dysregulation of different genes related with metabolism. In conclusion, PCLS can be considered a useful model for assessing the toxicity of oestrogenic substances such as ZEN when a model of the female reproductive system is not available.

INTRODUCTION

L'utilisation de coupes de foie de porc de précision (en anglais precision-cut liver slices, PCLS) s'est développée comme une alternative aux procédures *in-vivo* (Hasuda *et al.*, 2023). Dans ce projet, nous avons utilisé les PCLS pour évaluer la toxicité de la zéaralénone (ZEN), une mycotoxine œstrogénique reprotoxique étudiée généralement dans l'appareil reproducteur. Les porcs femelles prépubères sont très sensibles à la toxicité de la ZEN et des modèles d'étude de la toxicité chez les cochettes prépubères sont nécessaires (Knutsen *et al.*, 2017). L'obtention d'explants de tissus des organes reproducteurs est difficile chez ces animaux, en raison de leur petite taille. Alternativement, il existe des tissus répondant aux œstrogènes en dehors de l'appareil reproducteur, comme le tissu hépatique (Guillaume *et al.*, 2019). La toxicité de la ZEN est associée à son interaction agoniste avec les récepteurs ER- α /GPER1, présents dans le foie (Knutsen *et al.*, 2017). Ainsi, le foie pourrait être un bon substitut pour étudier l'effet de la ZEN chez les porcelets prépubères. Notre objectif ici est l'évaluation des PCLS comme un modèle *ex-vivo* pour évaluer la toxicité des substances œstrogéniques.

MATERIEL ET METHODES

1.1. Animaux et préparation des PCLS

Les expérimentations ont eu lieu à Toxalim (saisine N° TOXCOM 0310 LSV_V4) sur six porcelets femelles sevrées âgées de cinq semaines, étourdiées par électronarcose puis euthanasiées par exsanguination avant le prélèvement du foie. Le lobe gauche a été perfusé, des cylindres de 1 cm de diamètre de tissu ont été réalisés et des PCLS de 250 μ m d'épaisseur obtenues avec un trancheur de tissu (MD6000 Alabama). Les PCLS ont été incubées à 37°C pendant 4h à une atmosphère à 5 % de CO₂ dans du milieu Williams E complet (Williams EA12 17601 sans rouge de phénol, supplémenté avec 1 % de SVF filtré sur charbon, 1 % de L-glutamine, et 0,5 % de gentamicine) avec les traitements suivants : un contrôle positif (10 μ M estrogène), ZEN (3 μ M, 10 μ M, 30 μ M et 100 μ M ZEN), et le témoin négatif diméthylsulfoxyde (DMSO).

1.2. Analyse de l'expression des gènes par PCR quantitative

L'ARN des PCLS a été extrait et rétro-transcrit en ADNc comme décrit précédemment (Hasuda *et al.*, 2023). Les données ont été analysées à l'aide du logiciel LinRegPCR (version 2016.0) et normalisées en utilisant les gènes *ACTN-B* et *GAPDH* comme gènes de référence. Des gènes impliqués dans le métabolisme hépatique, sous contrôle transcriptionnel de la transactivation de ER α ont été sélectionnés : *ESR1*, *GPER1*, *GDF15*, *FGF21*, *ENHO*, *PPAR γ* , *CYP17A1*, *CYP7B1*, *STAT3*, *PTGDS*, *SREBF1*, *ACOX1*, *GPAM*, *PCK1* et *PKD4*.