

Les rencontres scientifiques de l'Anses

Restitution du Programme national de recherche environnement-santé-travail



Université Lille Nord de France
Pôle de Recherche
et d'Enseignement Supérieur



ÉVALUATION DE L'IMPACT TOXICOLOGIQUE DE LA POLLUTION PARTICULAIRE (PM_{2,5}) À DUNKERQUE : ÉTUDES SOUS INFLUENCES INDUSTRIELLE, NON INDUSTRIELLE ET RURALE. 2^{ÈME} PARTIE : APPROCHE TOXICOLOGIQUE *IN VITRO*

Guillaume GARÇON, Sylvain BILLET, Mona DERGHAM,
Capucine LEPERS, Véronique ANDRE, Anthony VERDIN,
Jérémy LE GOFF, Fabrice CAZIER, Dominique COURCOT,
François SICHEL, Pirouz SHIRALI



1^{ère} Partie

**Aérosols atmosphériques
particulaires globaux**

(PM_{2.5})

2007

2008

2^{ème} Partie

**Aérosols atmosphériques particuliers
asservis (Rural, Urbain, Industriel)**

(PM_{2.5})

2010

**Approche toxicologique *in vitro* : modèles de cellules pulmonaires
humaines (mono- et/ou coculture)**

**Activation métabolique
et génotoxicité**

**Stress oxydant, inflammation, activation
métabolique et génotoxicité**

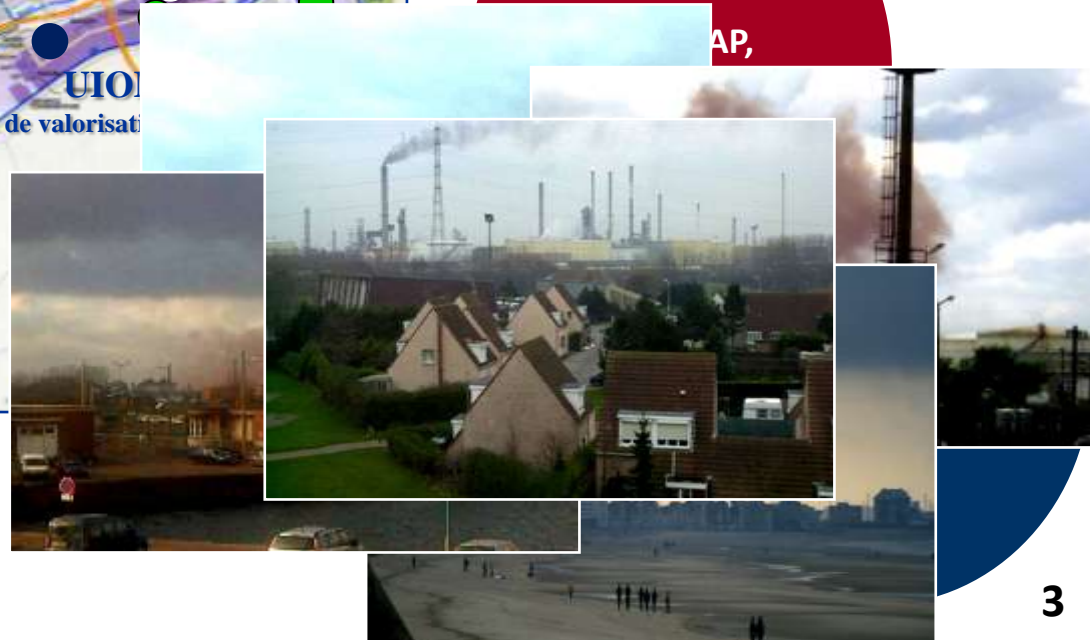
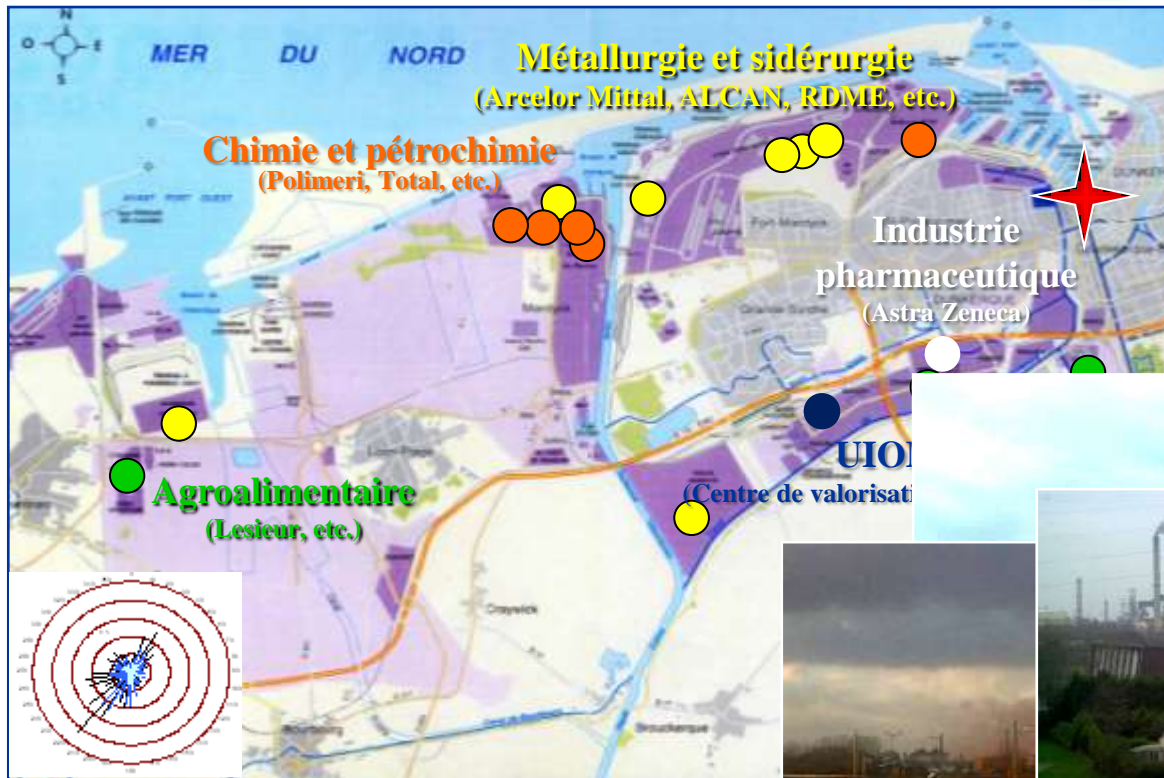
1^{ère} partie - AÉROSOLS ATMOSPHÉRIQUES PARTICULAIRES GLOBAUX (PM_{2.5})

➤ PM_{2.5} : 92 %

➤ 1 m²/g PM et 50 m²/g dPM

Fraction
ORGANIQUE :

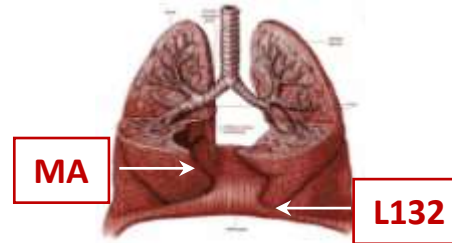
AP,



**AEROSOLS
(PM_{2,5})**

**FRACTION ORGANIQUE
(e.g. COV, HAP, PCDD/F, PCB,)**

MODELES CELLULAIRES



ACTIVATION METABOLIQUE

GENOTOXICITE

CYCLE CELLULAIRE

1^{ère} partie - MUTAGENÈSE BACTÉRIENNE

Doses (μg per plate)		Mean number of revertants per plate \pm SD					
		TA98		YG1041		TA102	
		-S9	+S9	-S9	+S9	-S9	
PM _{2.5}	0	22 \pm 2	21 \pm 1	85 \pm 6	90 \pm 11	338 \pm 20	
	5	22 \pm 2	24 \pm 5	118 \pm 13	111 \pm 5	349 \pm 25	
	25	20 \pm 3	23 \pm 3	109 \pm 25	108 \pm 6	377 \pm 27	
	50	23 \pm 2	32 \pm 4	186 \pm 16**	158 \pm 16*	382 \pm 8	
dPM	0	22 \pm 2	20 \pm 3	105 \pm 5	99 \pm 5	344 \pm 17	
	5	24 \pm 4	25 \pm 3	104 \pm 10	115 \pm 12	350 \pm 15	
	25	20 \pm 3	23 \pm 3	106 \pm 5	111 \pm 15	358 \pm 10	
	50	20 \pm 3	23 \pm 2	102 \pm 4	113 \pm 12	373 \pm 11	
Positive control		497	1103	888	1774	1407	

Positive control: TA98 – S9, 2-nitrofluorene, 2.5 μg per plate; TA98 + S9, 2-aminofluorene, 0.5 μg per plate; YG1041 – S9, 2-nitrofluorene, 0.5 μg per plate; YG1041 + S9, 2-aminofluorene, 0.1 μg per plate; TA102 – S9, ter-butyl-hydroperoxyde, 2 μmol per plate.

In bold are values significantly different compared with the spontaneous revertant level (* $P < 0.01$; ** $P < 0.001$).

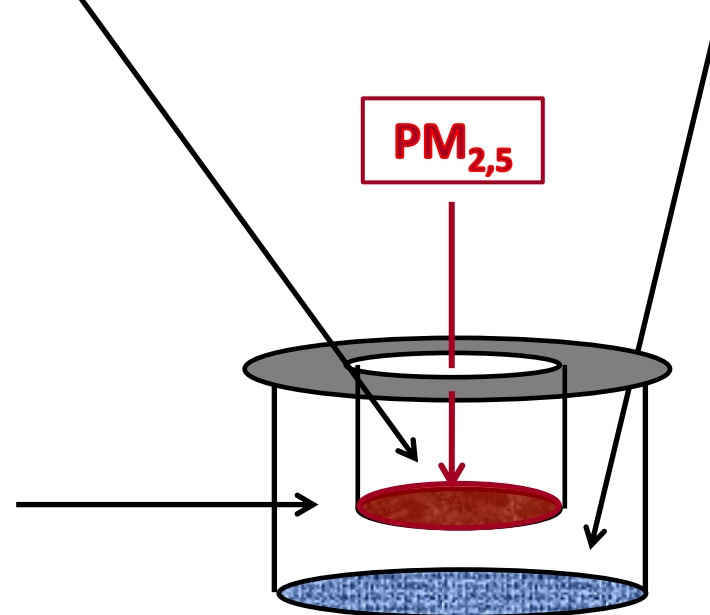
1^{ère} partie - MODÈLE DE COCULTURE DE CELLULES PULMONAIRES HUMAINES

➤ **Macrophages alvéolaires
humains (MA)**

➤ **Cellules embryonnaires d'épithélium
pulmonaire humain (L132)**

➤ **0,4 μm**

- **Pas de migration des cellules**
- **Passage des facteurs diffusibles**

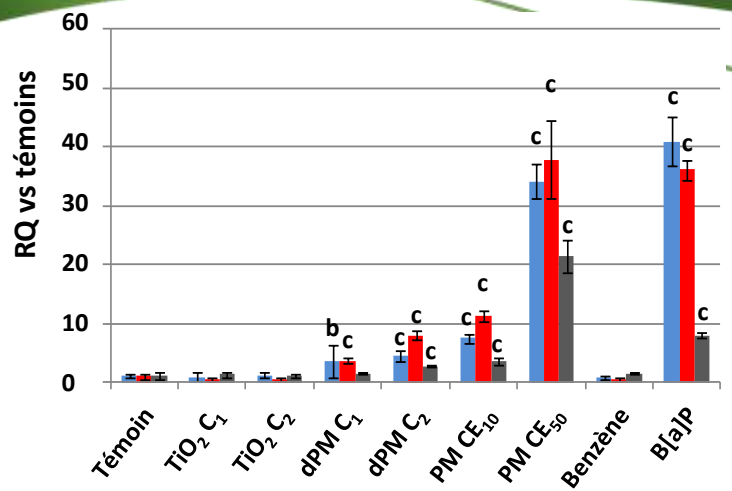


1^{ère} partie - EXPRESSION GÉNIQUE DU *CYP1A1*

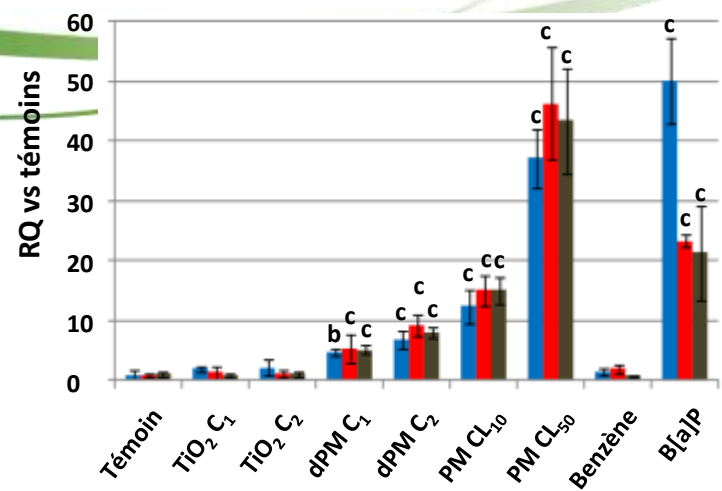
MA

Monoculture

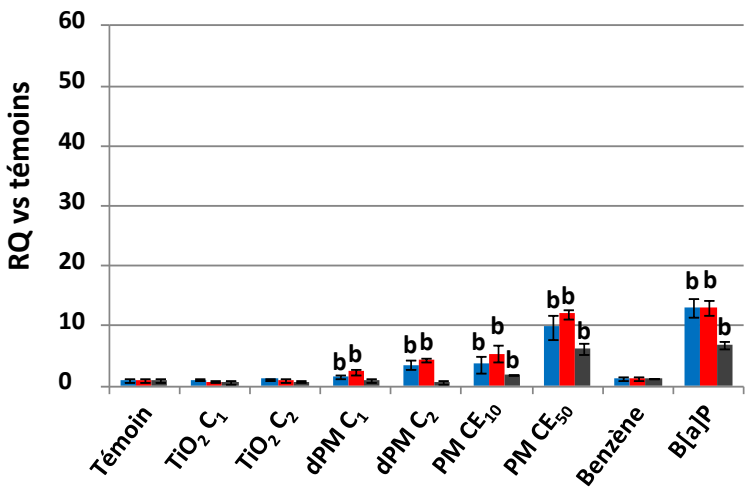
L132



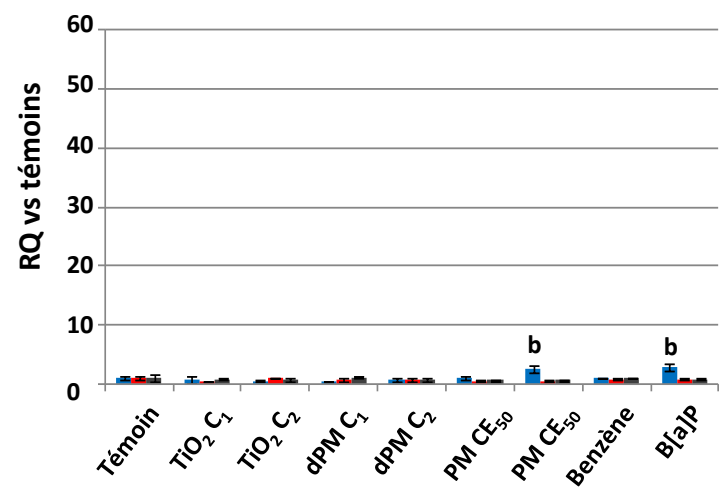
■ 24 h
 ■ 48 h
 ■ 72 h



Coculture



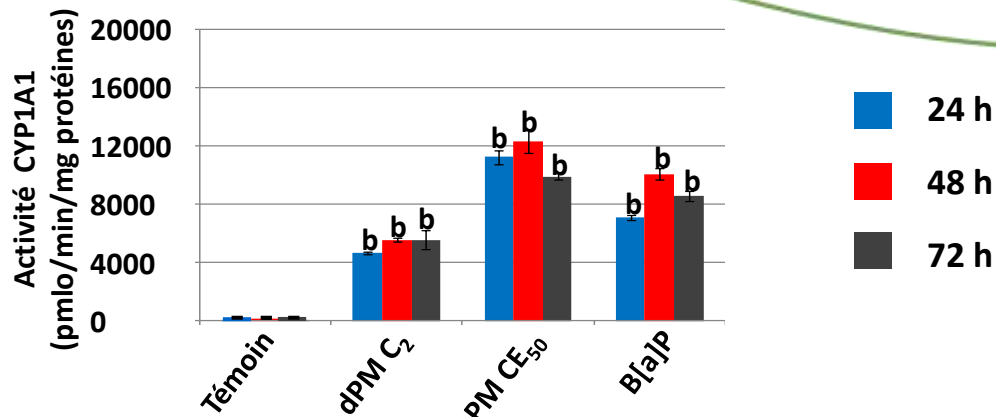
■ 24 h
 ■ 48 h
 ■ 72 h



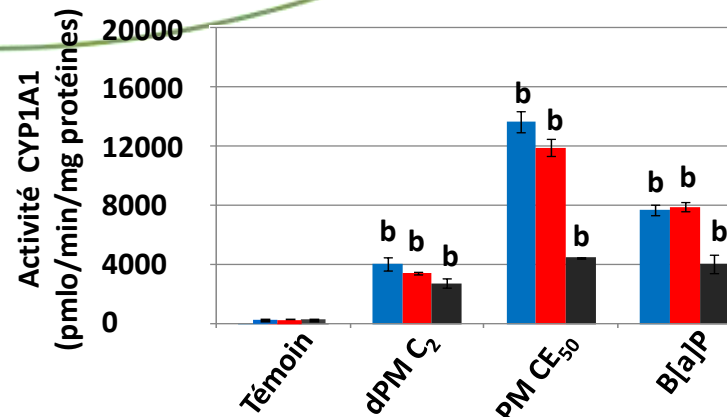
1^{ère} partie - EROD ET ADDUITS À L'ADN DES HAP DANS LES MA HUMAINS

EROD

Monoculture



Coculture

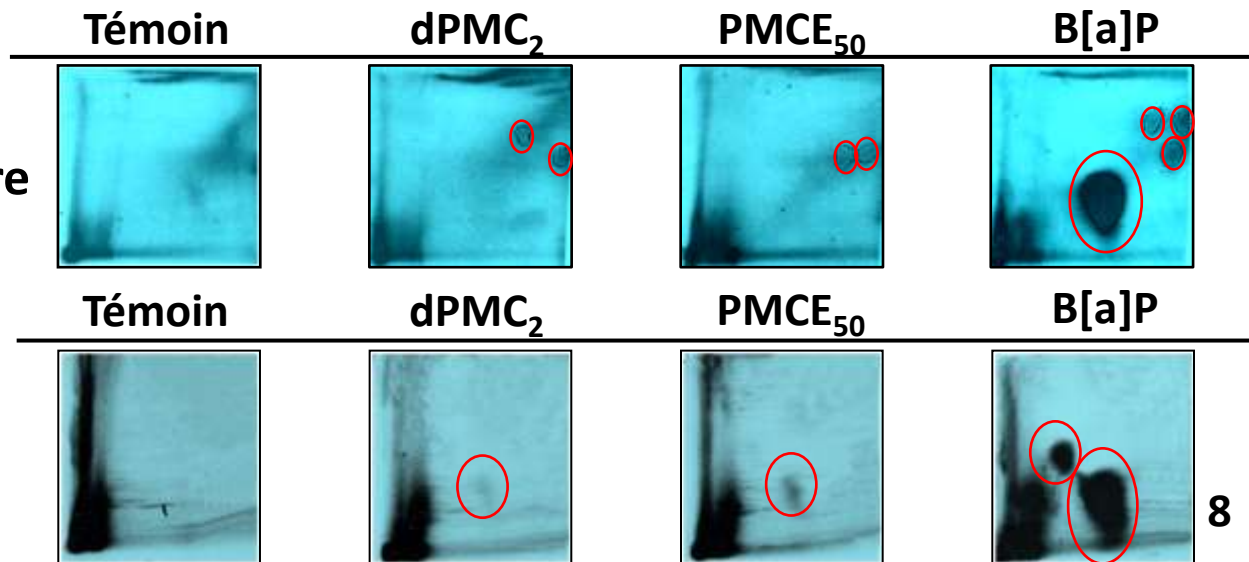


(Test U de Mann-Whitney versus Témoins ; b : p < 0,05)

Adduits encombrants à l'ADN

Monoculture

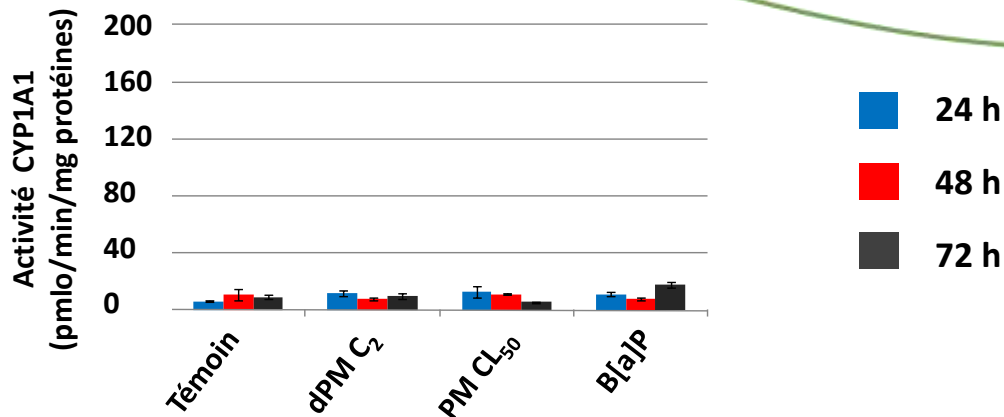
ADN thymus
BPDE



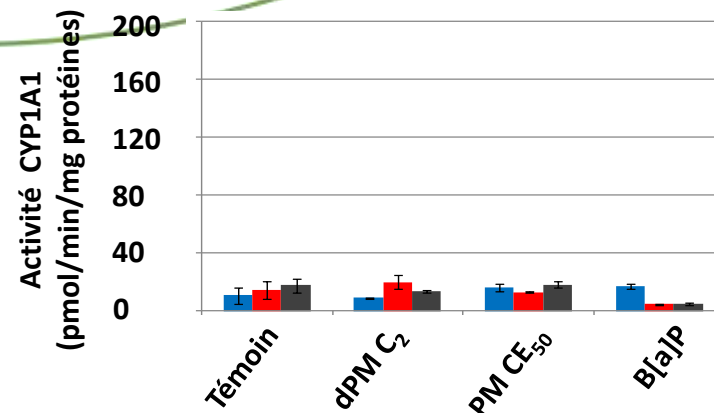
1^{ère} partie - EROD ET ADDUITS À L'ADN DES HAP DANS LES CELLULES L132

EROD

Monoculture



Coculture

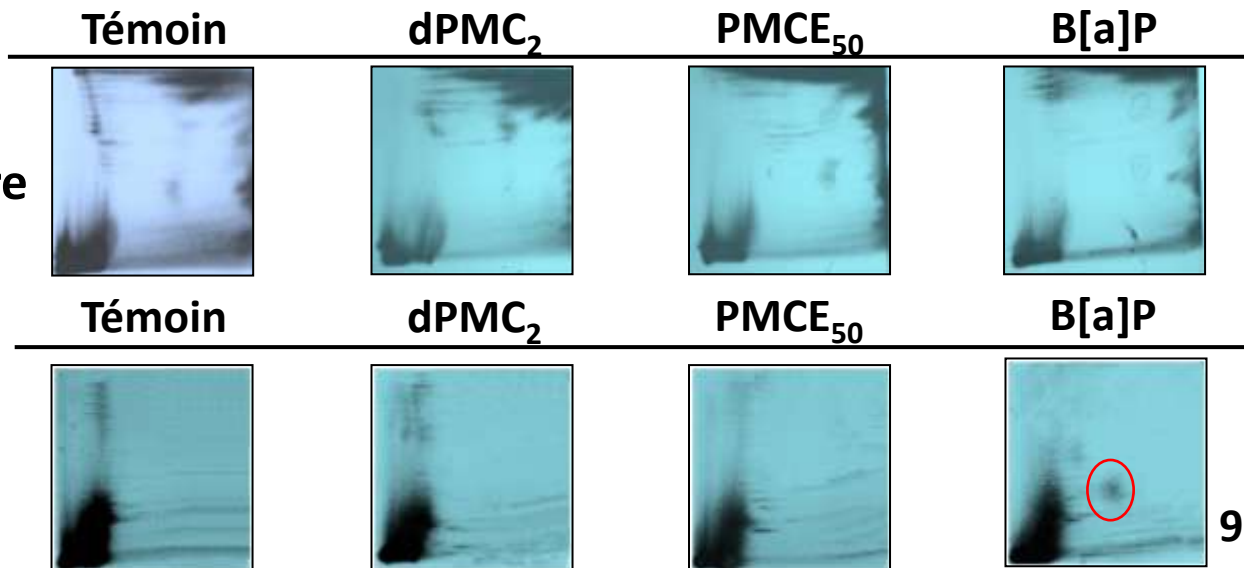


(Test U de Mann-Whitney *versus* Témoins)

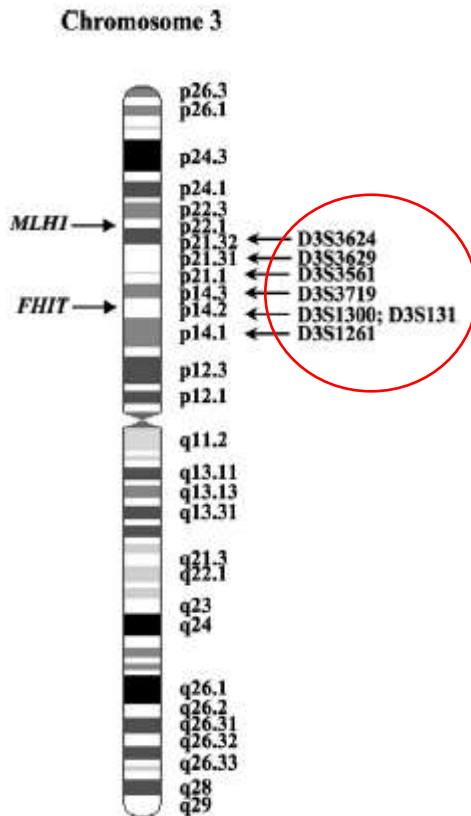
Adduits encombrants à l'ADN

Monoculture

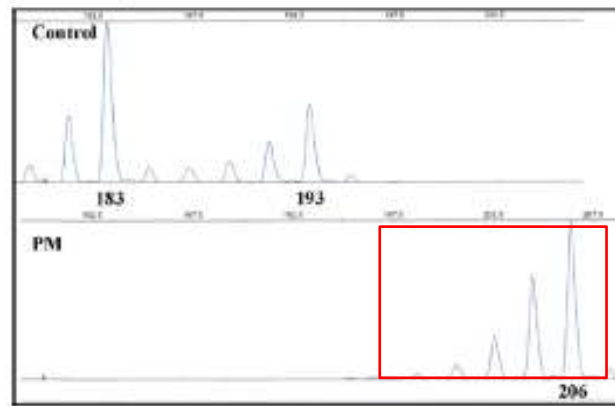
ADN thymus
BPDE



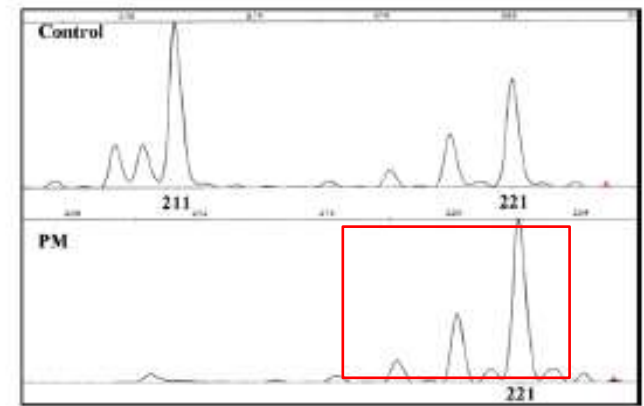
1^{ère} partie - PERTE D'HETEROZYGOTIE et INSTABILITE MICROSATELLITAIRE



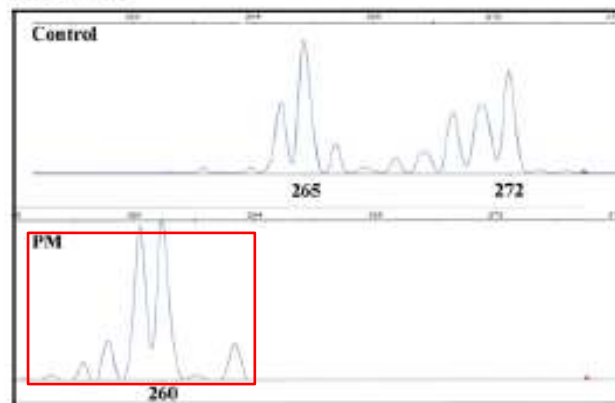
D3S1261



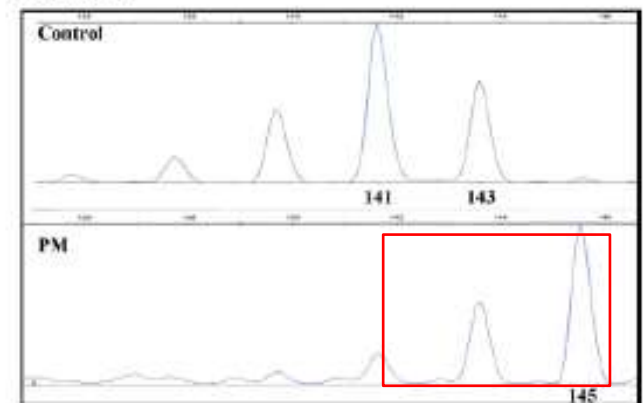
D3S1312



D3S3719

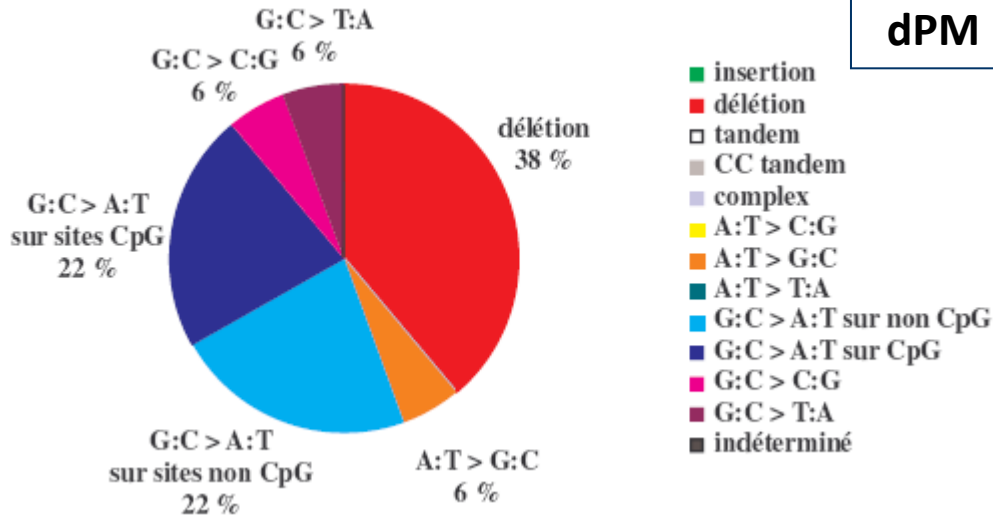


D3S3624



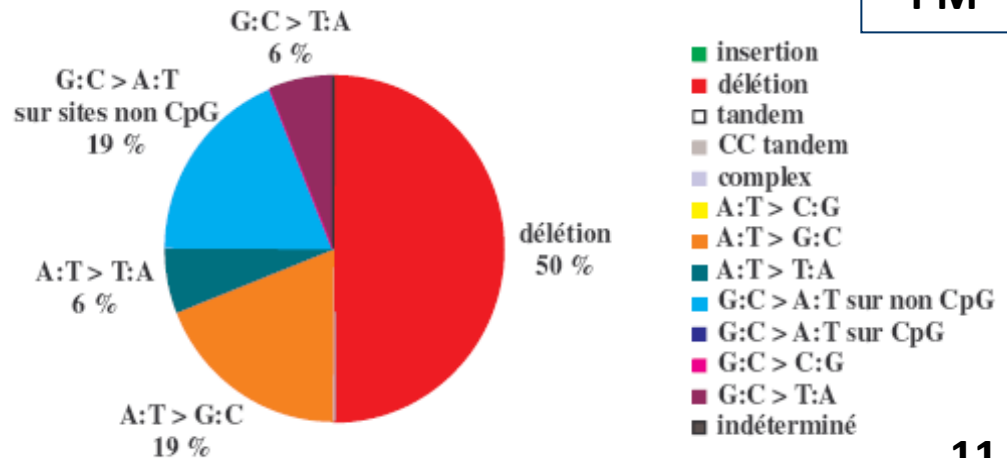
1^{ère} partie - MUTATION FONCTIONNELLE DE TP53

dPM



- insertion
- délétion
- tandem
- CC tandem
- complex
- A:T > C:G
- A:T > G:C
- A:T > T:A
- G:C > A:T sur non CpG
- G:C > A:T sur CpG
- G:C > C:G
- G:C > T:A
- indéterminé

PM



- insertion
- délétion
- tandem
- CC tandem
- complex
- A:T > C:G
- A:T > G:C
- A:T > T:A
- G:C > A:T sur non CpG
- G:C > A:T sur CpG
- G:C > C:G
- G:C > T:A
- indéterminé

3p⁻

9p⁻

17p⁻

Aneuploïdie

P16^{mut}

TP53^{mut}

uPA⁻ ST3⁺ (Epith)

CD1⁺

RAS^{mut}

Télomerase⁺ FHIT

Rb⁻

Protéases uPA ST3 (Stroma)



Epithélium normal



Hyperplasie



Dysplasie légère



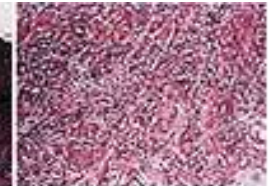
Dysplasie modérée



Dysplasie sévère



CIS

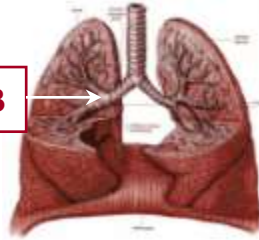


Cancer invasif

**AEROSOLS ASSERVIS
(Rural, Urbain, Industriel)
(PM_{2,5})**

MODELES CELLULAIRES

BEAS-2B



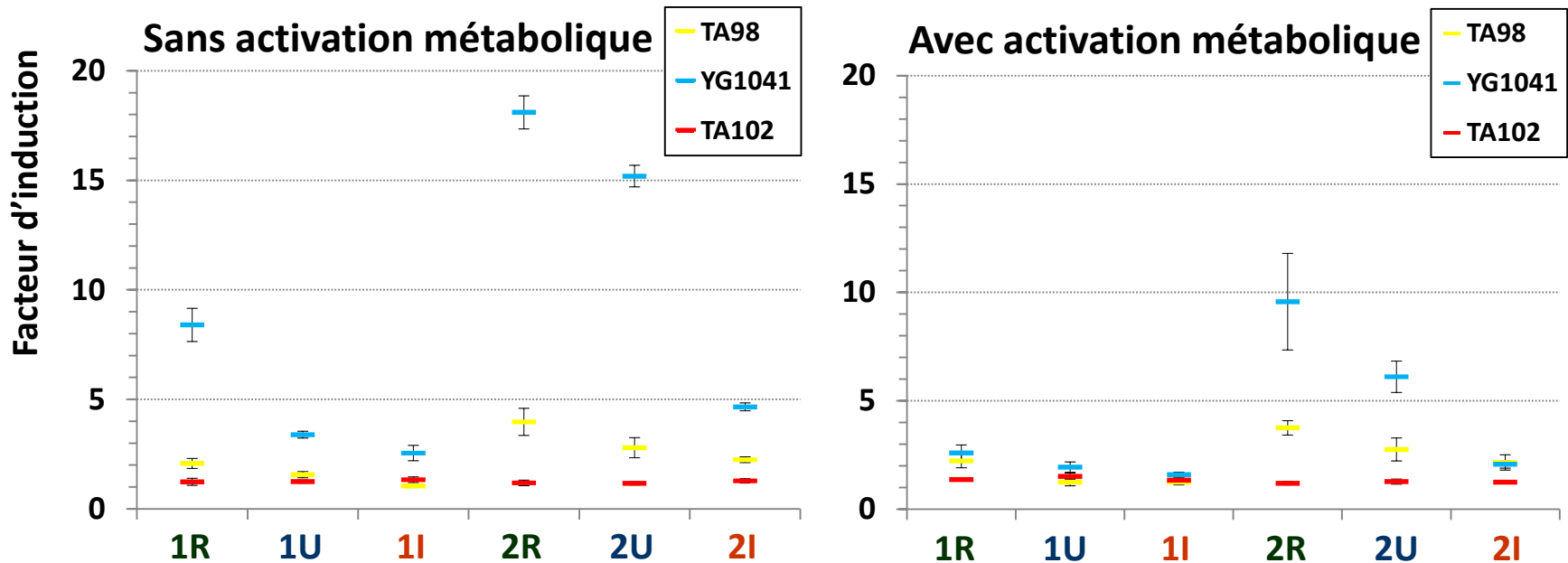
**STRESS
OXYDANT**

**REPOSE
INFLAMMATOIRE**

**ACTIVATION
METABOLIQUE**

GENOTOXICITE

CYCLE CELLULAIRE

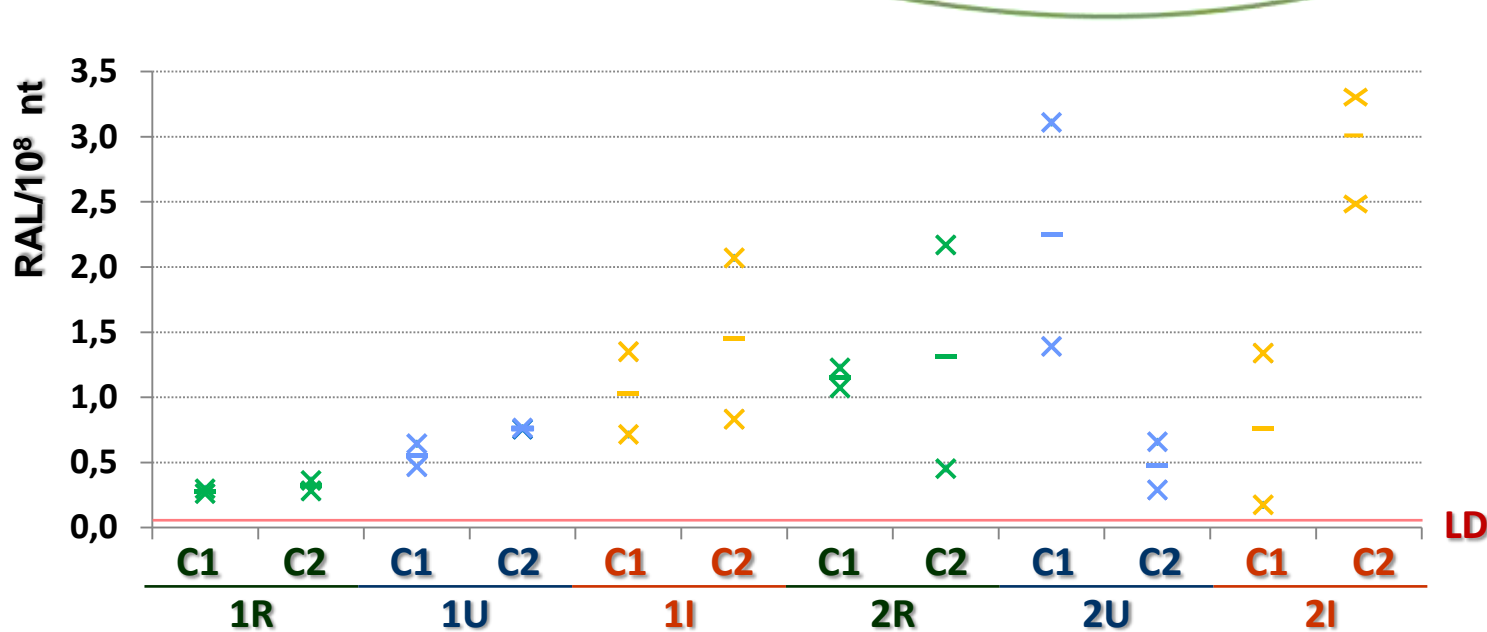


➤ Augmentation du nombre de révertants pour :

10 conditions / 12 (TA102), 9 conditions / 12 (TA98) et 12 conditions / 12 (YG1041)

➤ YG1041 : FI +S9 << FI -S9 R > U > I automne-hiver > printemps-été

2^{ème} partie - ADDUITS À L' ADN DES HAP DANS LES CELLULES BEAS-2B

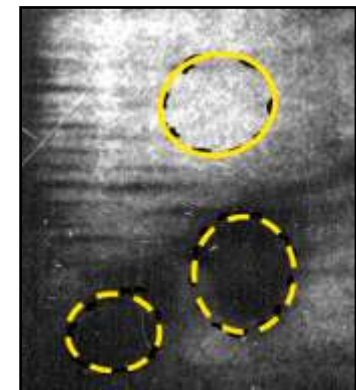


C1 = 3,75 µg/cm²
C2 = 15 µg/cm²

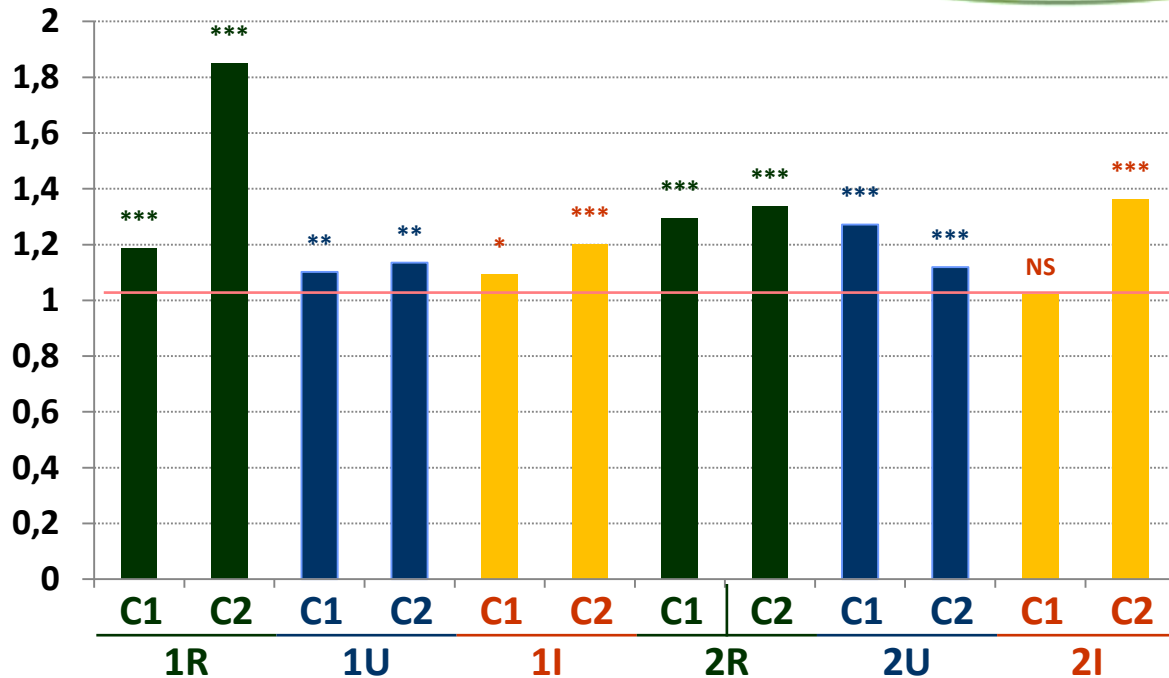
Témoin < LD
TiO₂ < LD

B[a]P 1 µM :
269/10⁸ nt
BPDE :
52,5/10⁸ nt

- Formation d'adduits encombrants de HAP et d'autres composés
 - Effet dose-dépendant
 - Cohérence avec expression génique du *CYP1A1* et EROD
- R < U < I automne-hiver > printemps-été

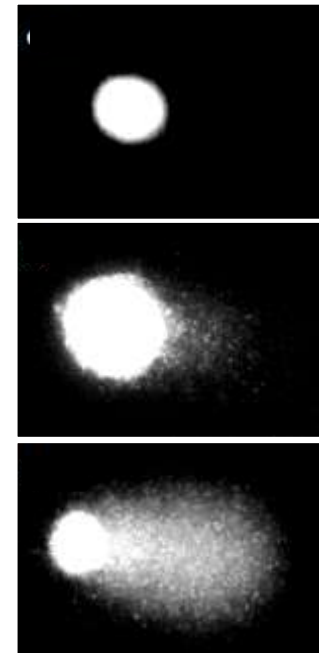


2^{ème} partie – CASSURES DE L'ADN DANS LES CELLULES BEAS-2B



C1 = 3,75 µg/cm²
C2 = 15 µg/cm²

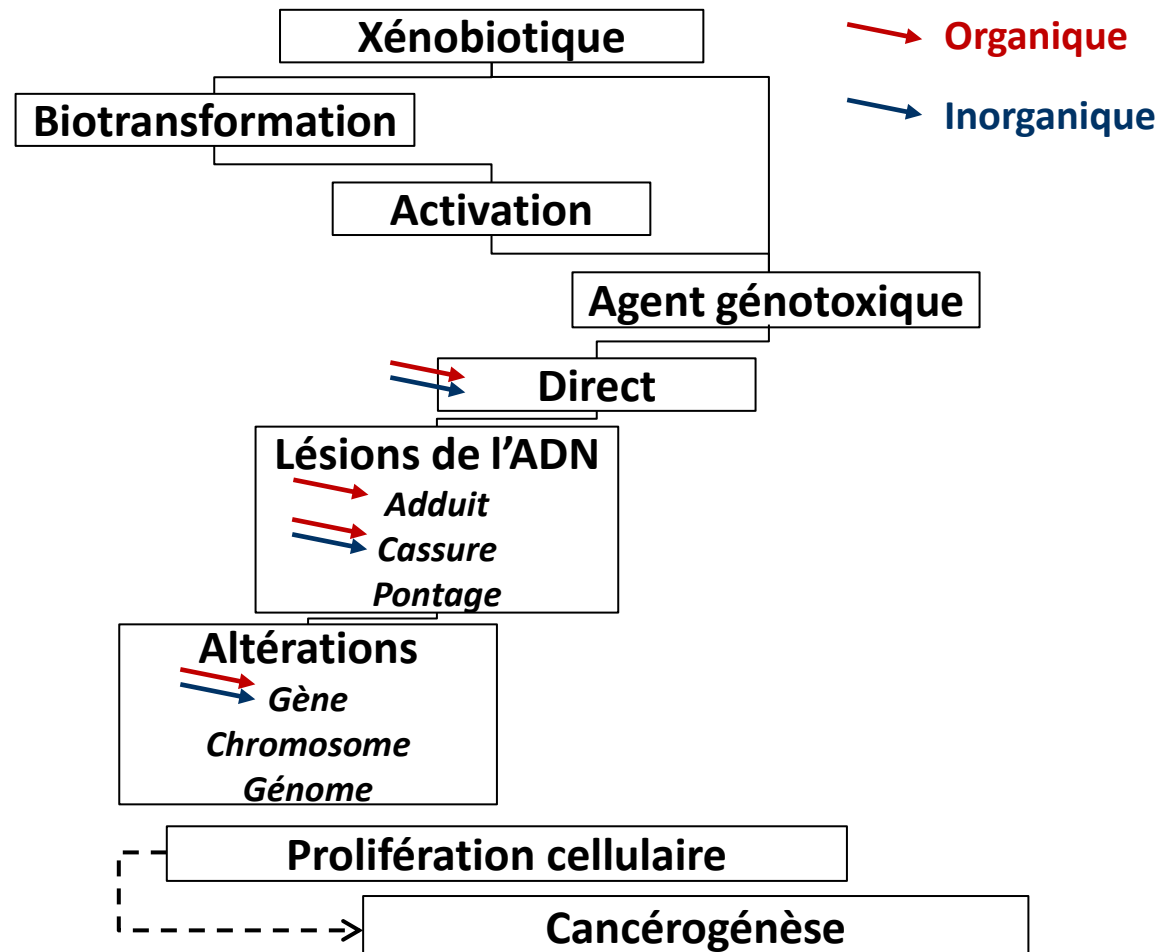
B[α]P (50 µM) = 1,454 ***
TiO₂ (15 µg/cm²) = 1,647 ***



- Fragmentation de l'ADN des cellules exposées
 - Effet dose-dépendant
 - R > U > I

➤ Cohérence avec formation de micronoyaux

	[PM _{2.5}] (µg/m ³)
1R	2,8
1U	9,9
1I	11,5
2R	1,9
2U	12,9
2I	15,4



**Les rencontres
scientifiques de l'Anses**

Restitution du Programme de recherche
environnement-santé-travail

REMERCIEMENTS

anses
alimentation, environnement, travail



Les rencontres scientifiques de l'Anses

Restitution du Programme national de recherche environnement-santé-travail



Université Lille Nord de France
Pôle de Recherche et d'Enseignement Supérieur



ÉVALUATION DE L'IMPACT TOXICOLOGIQUE DE LA POLLUTION PARTICULAIRE (PM_{2,5}) À DUNKERQUE : ÉTUDES SOUS INFLUENCES INDUSTRIELLE, NON INDUSTRIELLE ET RURALE. 2^{ÈME} PARTIE : APPROCHE TOXICOLOGIQUE *IN VITRO*

Guillaume GARÇON, Sylvain BILLET, Mona DERGHAM, Capucine LEPERS, Véronique ANDRE, Anthony VERDIN, Jérémie LE GOFF, Fabrice CAZIER, Dominique COURCOT, François SICHEL, Pirouz SHIRALI

