

Imprévisibles interactions entre contaminants. Les modèles d'additivité sont loin d'être toujours valides

Période : septembre 2011 à décembre 2011

Pierre-Marie BADOT

Université de Franche-Comté, CNRS – UMR 6249 Chrono-environnement – Besançon

Mots clés : Co-exposition, Évaluation des risques, Interactions, Modèles d'additivité, Multi-contamination, Toxicité des mélanges

De très nombreuses substances chimiques présentes dans l'environnement sont toxiques pour l'homme et d'autres organismes vivants. Un corpus considérable de connaissances a été réuni afin de décrire et de caractériser les effets délétères des expositions à ces substances toxiques. Ces informations sont utilisées pour évaluer les dangers et elles constituent la base des textes réglementaires qui permettent de gérer les risques liés à la toxicité et à l'écotoxicité des substances chimiques.

Cependant, la plupart des données toxicologiques et écotoxicologiques disponibles dans la littérature portent sur les effets de substances agissant isolément alors que dans le monde réel les organismes sont fréquemment exposés à de multiples substances agissant de manière concomitante. La multiplicité des combinaisons possibles de contaminants, la diversité des conditions d'exposition, la variété des organismes exposés interdisent toute approche exhaustive visant à une évaluation expérimentale de la toxicité des substances en co-exposition⁽¹⁾.

Dans ce contexte, les effets toxiques des mélanges de contaminants sont usuellement prédits à partir de modèles de référence basés sur les informations obtenues sur les substances agissant isolément et dont les effets ont été évalués indépendamment. Ainsi, les modèles d'addition des concentrations⁽²⁾ et d'indépendance d'action⁽³⁾ sont les plus utilisés et de nombreux travaux ont montré leur utilité lorsqu'il s'agit de disposer d'une première évaluation *a priori* de la toxicité des mélanges. Cependant, de nombreux cas d'interactions entre substances toxiques ont été décrits dans la littérature et l'on estime entre 20 et 40 % (Jonker *et al.*, 2004) la part des cas où des synergies⁽⁴⁾ ou des antagonismes⁽⁵⁾ entre contaminants sont observés. Dans de telles situations, les modèles usuels ne prédisent pas correctement la toxicité réelle des mélanges.

De nombreux travaux sont conduits actuellement pour combler les lacunes de l'évaluation *a priori* de la toxicité des mélanges. De nouvelles voies de modélisation mathématique sont en développement, mais l'un des plus grands challenges reste celui de prédire l'existence des interactions entre contaminants et de comprendre les mécanismes d'action à la base de ces interactions. Les nouveaux outils de la biologie cellulaire et moléculaire et notamment les approches génomiques, transcriptomiques et métabolomiques laissent entrevoir de prometteuses perspectives pour, d'une part, mieux comprendre et prévoir les interactions susceptibles d'exister entre substances toxiques induisant ou non des effets analogues et, d'autre part, mieux évaluer leur toxicité cumulée.

Effets du bisphénol A et du triclocarban sur l'expression spécifique de l'aromatase dans le cerveau de très jeunes embryons de poisson zèbre

Chung E, Genco MC, Megrelis L, Ruderman JV. Effects of bisphenol A and triclocarban on brain-specific expression of aromatase in early-fish embryos. *Proc Natl Acad Sci.* 108; 43: 17732-17737.

Résumé

Les œstrogènes sont impliqués dans la régulation de nombreux processus physiologiques et développementaux. La plupart de leurs effets sont dépendants de récepteurs œstrogéniques qui fonctionnent comme des facteurs de transcrits régulés par ligands. À côté des œstrogènes endogènes, de nombreux contaminants environnementaux sont capables d'activer ces récepteurs œstrogéniques. Ces xéno-œstrogènes ont donc la capacité d'interférer avec le développement, le comportement et les capacités reproductives de nombreuses espèces vivantes.

L'occurrence croissante des perturbations endocriniennes en résultant est une source de préoccupations de plus en plus vives en matière de santé publique et de protection de la vie sauvage. L'étude a pour objectif d'élucider comment deux substances connues pour leurs activités œstrogéniques et communes dans l'environnement – le bisphénol A et le triclocarban – affectent l'expression *in vivo* du gène de l'aromatase B dans le cerveau de lots de 30 embryons de poisson zèbre. L'aromatase B est une enzyme qui convertit les androgènes en œstrogènes et le gène de cette enzyme est une cible connue des œstrogènes endogènes. Le bisphénol A est connu depuis très longtemps pour ces propriétés œstrogéniques, il est très largement utilisé comme monomère par l'industrie des matières plastiques. Le triclocarban possède des propriétés antifongiques et antibactériennes qui font qu'il est présent dans de nombreux produits d'hygiène et de soins corporels. Les deux substances sont très répandues dans l'environnement et on les trouve notamment dans les boues de stations d'épuration et dans les milieux aquatiques.

Les résultats de l'étude montrent que, d'une part le bisphénol A, lorsqu'il agit de manière isolée, provoque une forte surexpression des ARN codant pour l'aromatase B et que d'autre part ceci se produit exclusivement dans le télencéphale, l'hypothalamus et les aires pré-optiques qui sont les régions cérébrales où sont présents les récepteurs œstrogéniques et où sont produits les œstrogènes endogènes. Le triclocarban n'a, quant à lui, qu'un effet modéré sur l'expression de l'aromatase lorsqu'il est seul, mais il stimule fortement la surexpression induite par les œstrogènes produits par l'embryon. Les deux substances bisphénol A et triclocarban, considérées isolément, ont donc le potentiel d'élever les niveaux de l'aromatase B dans le cerveau et par voie de conséquence d'augmenter les quantités d'œstrogènes endogènes. L'étude montre surtout que contrairement à ce qui pouvait être attendu, le triclocarban ne stimule pas la surexpression de l'aromatase B induite par le bisphénol A et au contraire tend à l'inhiber. Ce résultat montre que l'incidence d'un mélange même simple de polluants présentant une activité hormonale – les deux substances sont considérées toutes deux comme des xéno-œstrogènes – ne peut être prédite en l'état actuel des connaissances à partir des effets individuels de chaque substance.

Commentaire

L'approche biologique intégrée – alliant expression génique, hybridation *in situ*, toxicologie – qui est mise en œuvre dans ce travail a permis de confirmer plusieurs résultats antérieurs et d'obtenir des informations originales concernant certains des processus impliqués dans les mécanismes d'action du bisphénol A et du triclocarban sur la régulation œstrogénique : alors que le bisphénol A induit une surexpression des ARN codant pour l'aromatase B, le triclocarban n'a qu'un faible effet sur l'aromatase lorsqu'il est seul, mais est capable de stimuler la surexpression induite par les œstrogènes produits par l'embryon. En l'état, les auteurs ne proposent toutefois pas d'explication mécanistique à l'effet du triclocarban. Une meilleure compréhension des phénomènes sous-jacents permettrait vraisemblablement de mieux prendre en compte les éventuelles interactions susceptibles d'exister entre différents types de xéno-œstrogènes dans l'évaluation de leur toxicité combinée. Il serait notamment intéressant de mieux apprécier quelle est la nature exacte des interactions entre le triclocarban et les autres substances impliquées (œstrogènes endogènes et bisphénol A) : potentialisation⁽⁶⁾, inhibition⁽⁷⁾, masquage⁽⁸⁾, synergie ou antagonisme.

Cependant, cette étude à l'instar d'un nombre croissant d'autres travaux, confirme que lorsque les informations de nature biologique sur les mécanismes d'action des contaminants sont parcellaires, et que les données sur leurs possibles interactions sont inexistantes, il n'est pas possible de prédire avec une fiabilité suffisante leur toxicité conjointe.

Sur un plan pratique, il est donc indispensable dans de tels cas d'envisager la possibilité que de telles interactions modulent positivement ou négativement les effets toxiques. Bien souvent, seule l'étude de la toxicité des mélanges réels permet alors la

prise en compte appropriée de ces interactions dans la gestion des risques et la législation.

Il faut aussi remarquer que les concentrations utilisées dans ces expériences sont supérieures d'un à plusieurs ordres de grandeur à celles usuellement rencontrées dans l'environnement. Dans le cas présent, l'interaction mise en évidence entre les deux contaminants tend à réduire la toxicité réelle du mélange, qui en tout état de cause est inférieure à celles prédites par les modèles d'additivité classiques.

Évaluation transcriptomique des interactions pesticide/métal lourd chez les bivalves

Dondero F, Banni M, Negri A, Boatti L, Dagnino A, Viarengo A. Interactions of a pesticide/heavy metal mixture in marine bivalves: a transcriptomic assessment. *BMC Genomics*. 2011, 12:195 (Open Access)

Résumé

Les mélanges de substances chimiques toxiques présentes dans l'environnement marin exercent sur les organismes des effets conjoints, qui peuvent être additifs, synergiques ou antagonistes. L'étude a pour objectif de rechercher dans des modifications toxicocinétiques⁹ et toxicodynamiques¹⁰ l'origine des différences enregistrées entre les données de toxicité expérimentales obtenues sur un mélange et les prévisions issues des modèles d'additivité utilisant les données de toxicité recueillies après exposition aux substances agissant isolément.

Pour cela, une approche de toxicologie des systèmes a été conduite en exposant des moules à des mélanges binaires de nickel et de chlorpyrifos et en observant les conséquences en matière de profilage haut débit⁽¹¹⁾ de l'expression génique, de génomique fonctionnelle⁽¹²⁾, de biomarqueurs de stress et de toxicocinétique. Les biomarqueurs cellulaires et tissulaires tels que la stabilité des membranes lysosomiales de la glande digestive, le ratio entre volume lysosomal et volume cellulaire, le contenu en lipides neutres, ou l'activité acétylcholinestérase dans les branchies sont altérés tant par le nickel que par le chlorpyrifos. Cependant l'action conjointe des deux polluants se traduit par une réduction du syndrome de stress : les tests réalisés à l'aide de cette batterie d'indicateurs physiologiques montrent que les animaux exposés aux mélanges de polluants présentent un meilleur état de santé que ceux exposés aux substances isolées. L'étude montre aussi que l'atténuation de la toxicité qui est observée dans les mélanges n'est pas liée à des différences toxicocinétiques.

Au contraire, le profilage haut débit de l'expression génique et une analyse de génomique fonctionnelle basée sur l'ontologie des gènes montrent que cette diminution de la toxicité est sans doute liée à des réponses toxicodynamiques spécifiques. Le nickel et le chlorpyrifos élicitent des réponses biologiques similaires, mais génèrent des empreintes moléculaires distinctes qui conduisent à des différences dans les profils de transcription. L'exposition au nickel, métal qui est connu pour ses propriétés cancérigènes liées aux dommages oxydatifs qu'il cause sur les molécules d'acides nucléiques, permet d'identifier 135 gènes exprimés différemment, dont les transcrits sont impliqués dans le

métabolisme des acides nucléiques, la prolifération cellulaire et le métabolisme des lipides. L'exposition au chlorpyrifos, insecticide organophosphoré inhibiteur d'acétylcholinestérase, conduit à l'identification de 43 gènes exprimés différemment, dont la signature moléculaire est liée au métabolisme des carbohydrates et notamment celui de la chitine. L'exposition conjointe au nickel et au chlorpyrifos élicite l'expression de 103 gènes exprimés différemment, qui correspondent notamment à ceux ciblés par l'insecticide, mais qui présentent aussi des caractéristiques uniques au mélange de polluants.

L'approche transcriptomique est ainsi en pleine cohérence avec les données cellulaires et physiologiques: l'ensemble des résultats montre que la co-exposition se traduit par une réduction de la toxicité c'est-à-dire que la toxicité conjointe est inférieure à celle prédite. Ceci est vraisemblablement lié à la réduction ou même à la suppression des réponses lysosomiales. L'étude montre le potentiel des approches de toxicologie des systèmes pour progresser dans la description des mécanismes d'action des substances toxiques. Elle confirme que l'hypothèse d'absence d'interactions entre contaminants au sein d'un mélange est souvent erronée.

Commentaire

Ce travail démontre la puissance des nouvelles approches de toxicologie des systèmes et notamment des outils de génomique, transcriptomique et métabolomique pour l'étude des possibles interactions entre contaminants.

Il confirme aussi que les modèles conventionnels de prédiction de la toxicité des substances en co-exposition peuvent être pris en défaut et qu'en conséquence leur utilisation est sujette à caution.

CONCLUSION GÉNÉRALE

Les résultats présentés dans les deux publications analysées comme ceux de nombreux autres travaux récents montrent qu'il est extrêmement difficile de déterminer *a priori* les interactions susceptibles de se produire entre des substances toxiques agissant de manière concomitante.

Or, une évaluation satisfaisante des risques doit impérativement prendre en compte ces interactions.

Les modèles d'additivité conventionnels sont certes utiles en première approche, mais ils s'avèrent insuffisants lorsque ces interactions existent. Ils ne permettent pas alors de prédire la toxicité conjointe et peuvent conduire à des décisions problématiques en majorant sans réelle justification les risques liés à l'utilisation de certains composés ou au contraire en minorant les effets de l'exposition combinée.

Les approches autorisées par les techniques biologiques récentes devraient permettre de progresser dans l'identification et la connaissance des interactions entre substances toxiques en mettant l'accent sur une meilleure compréhension de leurs mécanismes d'action en fonction des conditions réelles d'exposition externe, de la toxicocinétique et de la toxicodynamique des polluants.

Lexique

- (1) Co-exposition: exposition conjointe à plusieurs contaminants environnementaux.
- (2) Addition des concentrations: lorsque les substances en co-exposition ont le même mécanisme d'action, il est possible d'évaluer leur toxicité conjointe en additionnant leurs concentrations exprimées en équivalents toxiques.
- (3) Indépendance d'actions: lorsque des substances en co-exposition ne présentent pas d'interactions, il est possible d'évaluer leur toxicité conjointe en additionnant leurs réponses.
- (4) Synergie: effet combiné de plusieurs composés chimiques supérieur à la somme des effets de chacun des substances considérées isolément.
- (5) Antagonisme: effet combiné de plusieurs composés chimiques inférieur à la somme des effets de chacun des substances considérées isolément.
- (6) Potentialisation: action d'une substance qui n'a pas d'effet par elle-même, mais qui renforce l'effet d'une autre substance.
- (7) Inhibition: action d'une substance qui n'a pas d'effet par elle-même, mais qui diminue l'effet d'une autre substance.
- (8) Masquage: action de composés exerçant des effets opposés ou fonctionnellement compétitifs sur un même site actif réduisant leur toxicité conjointe.
- (9) Toxicocinétique: étude descriptive et quantitative du devenir des toxiques dans un organisme au cours du temps.
- (10) Toxicodynamique: étude de l'ensemble des processus impliqués dans la distribution d'un toxique à des sites cibles et dans les effets toxiques induits.
- (11) Profilage haut débit: technique permettant de mesurer l'expression simultanée de milliers de gènes afin d'obtenir une description globale du fonctionnement cellulaire.
- (12) Génomique fonctionnelle: la génomique vise à baliser et séquencer le génome (cartographie physique des génomes, analyse de la structure des gènes, recherche de polymorphisme) ce qui permet notamment la recherche des causes génétiques de la variabilité des caractères. La génomique fonctionnelle s'intéresse à la fonction et à l'expression des gènes sous formes de transcrits (transcriptomique) et de protéines (protéomique), la métabolomique étant l'étude du profil en métabolites dans les fluides biologiques.

Publications de référence

Boon WC, Chow JD, Simpson ER. The multiple roles of estrogens and the enzyme aromatase. *Prog Brain Res.* 2010; 181: 209-232.

Crain DA, Eriksen M, Iguchi T *et al.* An ecological assessment of bisphenol-A: Evidence from comparative biology. *Reprod Toxicol.* 2007; 24: 225-239.

De Zwart D, Posthuma L. Complex mixture toxicity for single and multiple species: proposed methodologies. *Environ Toxicol Chem.* 2005; 24: 2665-2676.

EPA. Trichlocarban. High Production Volume (HPV) Chemical Challenge Program Data Availability and Screening Level Assessment. 2007; <http://www.epa.gov/hpv/pubs/summaries/tricloca/c14186tp.pdf>.

Jonker D, Freidig AP, Groten JP et al. Safety evaluation of chemical mixtures and combinations of chemical and non-chemical stressors. *Rev Environ Health*. 2004; 19: 83-139.

Spurgeon DJ, Jones OAH, Dorne JLCM et al. Systems toxicology approaches for understanding the joint effects of environmental chemical mixtures. *Sci Tot Environ*. 2010; 408: 3725-3734.

Vijver MG, Elliott EG, Peijnenburg WJGM et al. Response predictions for organisms water-exposed to metal mixtures: a meta analysis. *Environ Tox Chem*. 2011; 30: 1482-1487.

Mots clés utilisés pour la recherche bibliographique

Joint, Mixture, Toxicity

Revue de la littérature

Altenburger R. Understanding Combined Effects for Metal Co-Exposure in Ecotoxicology. *Metal ions in toxicology: effects, interactions, interdependencies*. *Met Ions Life Sci*. 2011; 8: 1-26.

Badot PM. Is the assessment of mixture toxicity an impossible challenge? *Archives des Maladies Professionnelles et de l'Environnement*. 2011; 72: 600-612

Callahan MA, Sexton K. If cumulative risk assessment is the answer, what is the question? *Environ Health Persp*. 2007; 115: 799-806.

Mumtaz MM, Sipes IG, Clewell HJ et al. Risk assessment of chemical mixtures: biologic and toxicologic issues. *Fundam Appl Toxicol*. 1993; 21: 258-269.

University of London, School of Pharmacy. State of the art report on mixture toxicity. 2009. [http://ec.europa.eu/environment/chemicals/pdf/report_Mixture %20toxicity.pdf](http://ec.europa.eu/environment/chemicals/pdf/report_Mixture%20toxicity.pdf).

Autres publications identifiées

Lister LJ, Svendsen C, Wright J et al. Modelling the joint effects of a metal and a pesticide on reproduction and toxicokinetics in Lumbricid earthworms. *Environ Int*. 2011; 37: 663-670.

Étude montrant l'importance de la toxico-cinétique dans l'analyse des interactions entre contaminants. Exemple portant sur les effets conjoints des métaux et d'un pesticide chez les lombrics.

Santos MJG, Soares AMVM, Loureiro S. Joint toxicity of three plant protection products to *Triticum aestivum* (L.) and *Brassica rapa* (L.). *J Soils Sediments* 2011; 11:990-999.

Exemple portant sur des organismes végétaux en environnement terrestre exposés à des pesticides largement utilisés (glyphosate, diméthoate et spirodiclofen).

Xu X, Li Y, Wang Y et al. Assessment of toxic interactions of heavy metals in multi-component mixtures using sea urchin embryonic larval bioassay. *Toxicol in vitro* 2011; 25: 294-300.

Développement d'un modèle prédictif basé sur l'évaluation des facteurs de concentration.