

anses

agence nationale de sécurité sanitaire
alimentation, environnement, travail



Connaître, évaluer, protéger

Bulletin de veille scientifique

BVS

Édition scientifique • Bulletin de veille n° 33 • Avril 2018
Notes d'actualité scientifique

Santé / Environnement / Travail



Le Bulletin de veille scientifique présente régulièrement l'actualité scientifique, telle que perçue par les chercheurs qui signent les notes de lecture. Celles-ci traitent de sujets variés, dont certains en forte résonance avec l'actualité du moment.

C'est le cas de ces avancées scientifiques publiées entre octobre 2016 et mars 2017, dans les domaines de l'écotoxicologie, de la santé et des risques sanitaires appréhendés par un regard sociologique.

La moitié des notes de ce bulletin s'appuie sur des articles analysant ou présentant des études épidémiologiques. Plusieurs de ces études menées au niveau national ou international ciblent les conséquences sur le développement fœtal humain, d'expositions professionnelles à des agents chimiques ayant un potentiel de perturbation endocrinienne ou l'effet de l'exposition aux particules atmosphériques ou bien les variations climatiques (pics de chaleur). Certaines de ces études épidémiologiques investiguent les relations entre pollution atmosphérique et maladies chroniques, métaboliques ou neuro-dégénératives. D'autres études épidémiologiques évoquées dans ce bulletin permettent aussi de questionner des habitudes comme la prescription de fluor au vu de cas de fluoroses osseuses, ou de préconiser un meilleur accès aux soins pour le dépistage de tumeurs solides dans les populations socialement défavorisées.

Par ailleurs, certains articles présentent des travaux de recherche fondamentale, comme l'étude de l'impact du TCDD (dioxine) sur les cellules souches hématopoïétiques, l'effet de l'activation du système immunitaire au cours de la gestation, et l'intérêt des ARN double-brin comme alternative aux insecticides chimiques.

À propos des micro-organismes, il est expliqué comment les phages bactériens peuvent contribuer à la dissémination de l'antibiorésistance, ou encore la nécessité de mieux caractériser les expositions des travailleurs aux aérosols microbiens générés sur les plateformes de valorisation des déchets organiques.

Gérard Lasfargues

Agents physiques..... 9**Nanoparticules d'argent : impacts au niveau des transmissions glutamatergiques et sur la régulation hormonale de la fonction de reproduction..... 10**

Isabelle PASSAGNE

Les nanoparticules d'argent, commencent à envahir les produits de notre vie quotidienne (textiles, cosmétiques, alimentation) sans que l'on connaisse réellement leur toxicité. À ce jour, peu d'études ont été menées sur leur impact neurotoxique ou reprotoxique alors que ces nanoparticules d'argent peuvent passer les barrières hémato-encéphalique ou hémato-testiculaire. La publication récente de deux articles traitant de ces deux sujets, ouvre des perspectives nouvelles sur leur potentiel toxique. Les travaux de Begum et al. (2016) mettent en avant un effet sur les neurones glutamatergiques avec des modifications post-traductionnelles de la protéine Tau. Ceci suggère un mécanisme proche de celui observé dans des maladies neurodégénératives. Les travaux de Dziendzikowska et al. (2016) soulignent la capacité des nanoparticules à induire des modifications hormonales chez l'animal, pointant des altérations de la fonction reproductive mais aussi posant la question de leurs effets sur le système endocrinien.

Impacts d'une exposition aiguë par voie orale, ou chronique par voie respiratoire, à des nanoparticules de dioxyde de titane et potentiels effets physiopathologiques chez le rongeur 15

Jérôme GAY-QUEHEILLARD

De par les nombreuses applications innovantes que laissent entrevoir leurs propriétés physiques, chimiques ou biologiques, les nanomatériaux représentent un domaine de la recherche scientifique et technique en pleine expansion. Les nanoparticules sont désormais intégrées à de nombreux procédés industriels et entrent dans la composition de très nombreux produits de la vie courante. L'exposition des populations peut être dans certains cas professionnels (industrie, laboratoires) ou par le biais de sites industriels pour les populations riveraines. Toutefois l'ensemble de la population apparaît désormais exposée aux nanoparticules en raison de leur omniprésence, notamment dans l'alimentation (additif alimentaire). Les impacts potentiels de ces molécules sur les populations sensibles et vulnérables comme les enfants, particulièrement consommateurs de bonbons et autres produits chargés en nanoparticules, sont préoccupants puisque certaines études chez l'animal révèlent la survenue de lésions au niveau digestif et pulmonaire (12,13). Néanmoins les données expérimentales ne sont pas pour l'instant suffisamment étayées pour établir réellement une démarche de prévention des risques.

Agents chimiques..... 19**Perturbateurs endocriniens (expositions professionnelles et issues sur la grossesse et les nouveau-nés – présence au niveau urinaire et testostérone chez des adolescents) 20**

Patrick THONNEAU

La première étude met en avant la possible contribution d'expositions professionnelles aux PE lors de périodes charnières dans le développement, et en particulier lors de la grossesse. - réduction du poids des enfants à la naissance chez les femmes professionnellement exposées aux PE, tout particulièrement en cas d'expositions péri-gravidique au Bisphénol A ou aux retardateurs de flamme bromés. La seconde étude menée sur un très large échantillon de la population nord-américaine montre, quant à elle, une relation entre la présence de deux PE, Bisphénol A et Benzophénone-3 et des taux plus faibles de testostérone chez les adolescents masculins de douze à dix-neuf ans, parallèlement une augmentation du taux de testostérone total a été notée chez des adolescentes féminines en présence de bisphénol A.

Impact de composés perfluorés sur le développement de stéatoses hépatiques 24

Laila MSELLI-LAKHAL

Les composés perfluorés sont une large famille de substances utilisés dans de nombreuses applications industrielles et produits de consommation courante. Très persistants et résistants à la dégradation, ils sont retrouvés dans tous les compartiments de l'environnement et dans la chaîne alimentaire. Ces composés sont suspectés de contribuer au développement de pathologies hépatiques de type stéatoses ou stéatohépatites dont l'incidence est en forte augmentation. Plusieurs articles parus au cours des derniers mois étudient, dans des modèles animaux, cet effet stéatogène des composés perfluorés en apportant des données sur la complexité des mécanismes en jeu.

Nouvelle méthode globale d'évaluation de l'exposition aux pesticides par l'échantillonnage et l'analyse des eaux usées.28

Jean-Christophe GARRIGUES

La mesure de l'exposition aux pesticides pour la population est un enjeu majeur lié à l'utilisation croissante de ces agents chimiques. La recherche directe des molécules utilisées pour les traitements est complexe, du fait de leurs dégradations. En postulant que tout agent chimique absorbé par un individu va être métabolisé, il est possible de suivre l'exposition aux agents chimiques en recherchant ces métabolites dans les fluides biologiques et particulièrement dans les urines. Il est alors possible d'identifier des métabolites stables et représentatifs soit d'un seul agent chimique, soit d'une famille de pesticides. Les deux études présentées dans cette note montrent les avancées obtenues dans le suivi des métabolites de pesticides, par prélèvement, traitement et analyse des eaux usées urbaines. Une étude épidémiologique à l'échelle d'un pays peut ainsi être menée à partir de quelques dizaines de prélèvements.

Exposition gestationnelle aux hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAP) - comment évaluer les HAP et quels effets sur les enfants exposés *in utero*33

Delphine ROUSSEAU-RALLIARD

La pollution atmosphérique est une préoccupation majeure de santé publique ; elle affecte particulièrement les populations vulnérables, aux nombres desquelles figurent les femmes enceintes et leur descendance. De récentes études épidémiologiques ont montré que la pollution de l'air des grandes villes affectait la croissance fœtale, démontrant la vulnérabilité de la période gestationnelle face aux polluants chimiques notamment ceux qui sont adsorbés sur les particules fines, tels les HAP. En effet les fœtus seraient particulièrement vulnérables aux HAP qui pourraient endommager les circuits neuronaux (neuro-toxicité) avec de possibles répercussions comportementales postnatales. Il convient de mettre en œuvre le biomonitoring de ces HAP via des biomarqueurs (adduits à l'ADN ; dosage des HAP et de leurs métabolites) pour évaluer les niveaux d'exposition des populations et pouvoir aussi évaluer les effets.

Dioxine et cellules souches : la double peine.38

Benoit MIOTTO et Anne LETESSIER

La dioxine est un polluant organique persistant et cancérigène. Les effets néfastes sur la santé des dioxines sont avérés et de plus en plus documentés. Les études choisies dans cette note illustrent l'impact de la dioxine sur le renouvellement des cellules souches normales et cancéreuses. Dans le cas des cellules souches hématopoïétiques le TCDD altère la lymphopoïèse B. Dans le cas des cellules souches cancéreuses mammaires le TCDD augmente leur nombre ; l'inhibition du récepteur au TCDD est associée à une meilleure sensibilité à l'agent chimio-thérapeutique doxorubicine. Ces deux études montrent que l'exposition à la dioxine altère la biologie des cellules souches, ce qui peut avoir des conséquences sur la santé humaine et la prise en charge de patients atteints d'un cancer du sein.

Les conséquences pathologiques de l'absorption excessive du fluor dépendent non seulement de la dose mais également du fonds génétique et du mode de vie42

Sylvie BABAJKO

Le fluor est un agent préconisé pour prévenir la carie et très présent dans l'environnement notamment dans l'eau de boisson. Or les doses prophylactiques sont à peine deux fois moindres que les doses qui augmentent le risque de fluoroses et autres toxicités. Les deux publications sélectionnées montrent qu'en plus de la dose, l'effet du fluor peut varier en fonction de paramètres génétiques (article de Zhou) ou de paramètres environnementaux liés au mode de vie (article de Jain). Des études épidémiologiques s'avèrent nécessaires pour redéfinir le rapport bénéfice / risque du fluor en prenant en compte les nouvelles conditions environnementales, les composantes génétiques individuelles, et les habitudes de vie actuelles.

Agents biologiques..... 47

Contribution des bactériophages à la dissémination des gènes de résistance aux antibiotiques dans l'environnement.....48

Michel GAUTIER

La présence récurrente de gènes de résistance aux antibiotiques dans l'environnement est de plus en plus démontrée. Les bactéries peuvent acquérir ces gènes par divers mécanismes et les bactériophages sont

responsables de l'un d'entre eux : à l'issue d'un cycle infectieux lytique libérant de nouveaux virions, certains phages peuvent transférer des gènes à d'autres bactéries. Des études récentes montrent que la diversité et la quantité de ces gènes véhiculés par les bactériophages est proportionnelle à leur présence dans l'environnement. Il semblerait que le mécanisme le plus courant soit l'infection de la bactérie par une particule phagique ayant emballé par erreur un fragment d'ADN bactérien isolé. La compréhension de ces mécanismes de transferts génétiques impliquant les bactériophages est très importante, dans la mesure où ces organismes sont probablement appelés à être utilisés à grande échelle pour lutter contre les bactéries pathogènes en tant qu'alternative aux antibiotiques.

Caractérisation de l'exposition aux agents biologiques et chimiques et effets sur la santé dans les filières de la valorisation des déchets organiques.....53

Anne OPPLIGER et Julia KRÄMER

Les filières de la valorisation des déchets organiques sont en pleine expansion et font parfois appel à de nouvelles technologies pouvant exposer les travailleurs à des risques peu ou mal appréhendés. Les matières organiques sont une source de prolifération de microorganismes qui, une fois aérosolisés et inhalés, peuvent générer des symptômes respiratoires aigus et/ou chroniques. De plus, les processus de traitement et de stockage de ces déchets entraînent aussi l'émission de nuisances chimiques (notamment des gaz toxiques). Les opérations de maintenance sont souvent les phases les plus critiques de ces processus car elles sont fréquemment associées à des pics d'exposition. La nécessité de mieux caractériser les expositions tout au long des différentes étapes de travail est primordiale afin de mettre en place des mesures de prévention collectives efficaces.

L'exposition *in utero* à l'activation de l'immunité maternelle est un facteur de prédisposition à des anomalies du comportement et de la réponse immunitaire chez le jeune et l'adulte.....57

Laetitia DAVIDOVIC

L'exposition *in utero* à des agents infectieux est un facteur de risque important pour l'autisme. Les travaux repris dans cette note portent sur des modèles animaux d'exposition *in utero* de l'activation de l'immunité maternelle. Le modèle de primate non-humain a établi une association entre des niveaux élevés de cytokines et l'occurrence de stéréotypies motrices. Le modèle de souris a permis de montrer que la superposition d'effets de la génétique, du genre et de l'environnement potentialise l'apparition d'anomalies comportementales. Ces travaux renforcent les liens existant entre l'exposition *in utero* à l'infection et l'autisme et montrent que la grossesse est une fenêtre développementale de vulnérabilité pendant laquelle l'infection peut menacer le cerveau fœtal.

Évaluation des risques environnementaux dus aux ARN répresseurs61

Hervé SEITZ

Au cours de ces vingt dernières années, la communauté scientifique a découvert de nouveaux mécanismes de régulation des gènes impliquant les acides ribonucléiques (ARN) :

i) des ARN endogènes, les «microARN», qui contrôlent naturellement l'expression des gènes et ii) les ARN double-brin, qui répriment des gènes spécifiques, ce qui permettrait le développement d'insecticides qui ne seraient toxiques que pour quelques espèces d'insectes. Ces nouvelles connaissances posent de nouvelles questions : des observations suggèrent que les microARN issus du milieu naturel pourraient pénétrer dans un organisme (par exemple par l'alimentation) et perturber l'expression de ses gènes. Quant aux insecticides à base d'ARN double-brin, ils pourraient constituer un nouveau polluant biologique. Les articles traités ici explorent ces risques potentiels.

Qualité des milieux 65

Exposition de la femme enceinte à la température ambiante et issues de grossesse66

Johanna LEPEULE

Dans le contexte du changement climatique, une augmentation de la température moyenne mondiale est attendue, avec des variations de température plus importantes et fréquentes. L'étude de Molina et Saldarriaga montre un effet délétère des variations de température au premier trimestre de la grossesse sur le poids de l'enfant à la naissance, en tenant compte de l'acclimatation locale. L'étude d'Auger et al. montre un effet potentiel d'une température ambiante élevée entre la 2^{ème} et la 8^{ème} semaine post-conception sur les malformations cardiaques congénitales. Prendre en compte l'acclimatation locale et saisonnière, explorer la variation des expositions, et accroître la résolution spatiale des expositions estimées pour limiter l'erreur de

mesure et caractériser les ilots de chaleur urbains font partie des étapes qui permettront d'apporter aux décideurs publics des réponses pratiques et cohérentes en regard des modifications des températures observés et attendus dans le contexte du changement climatique.

Étude des effets biologiques des hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAPs) en liant biomarqueurs d'exposition et biomarqueurs d'effet. 71

Marie-Cécile CHALBOT

Les hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAP) forment un mélange de contaminants d'origine environnementale issus de la combustion ou formés lors de la cuisson d'aliments à forte température ou lors des procédés de séchage ou de fumaison. L'exposition aux HAPs est un facteur de risque pour le cancer du poumon et du colon, et les HAPs montrent également une activité de perturbateurs endocriniens. Les deux articles commentés lient biomarqueurs d'exposition aux HAPs aux biomarqueurs d'effet biologique afin de prendre en compte l'exposition complète par inhalation, ingestion d'aliments et par voie topique. Ils mettent en évidence un changement dans les concentrations d'hormones lors du cycle menstruel et montrent que les HAPs, en augmentant les réactions inflammatoires, agissent sur la santé des artères et induisent des dommages à l'ADN.

Pathologies..... 75

Particules fines et diabète : un lien causal..... 76

Laurence VERNIS

Les facteurs environnementaux auxquels nous sommes confrontés ont fortement évolué ces dernières décennies, en relation avec nos récents changements de modes de vie. En parallèle, de multiples maladies métaboliques, telles que l'obésité et le diabète de type 2, ont augmenté de manière spectaculaire dans la population générale. Deux études montrent un lien causal entre une exposition chronique aux particules fines et l'augmentation de perturbations de la glycémie chez des individus non-diabétiques, perturbations connues par ailleurs pour favoriser l'apparition ultérieure de diabète. Ces données soulignent combien la qualité de l'air dans les villes représente un enjeu de santé publique, et l'importance de réduire les émissions de particules polluantes.

Epidémiologie de la sarcoïdose par l'étude de certificats de décès : facteurs de risque environnementaux et professionnels 79

Orianne DUMAS

La sarcoïdose est une maladie inflammatoire pouvant se manifester au niveau de divers organes, et caractérisée par la formation de granulomes. La cause exacte de cette maladie potentiellement grave reste inconnue. En plus de déterminants génétiques, l'exposition à des antigènes provenant de sources environnementales multiples pourrait jouer un rôle dans cette pathologie. Des recherches récentes portant sur l'épidémiologie et l'étiologie de la sarcoïdose par l'étude de certificats de décès en France et aux Etats-Unis sont présentées. Leurs résultats apportent de nouveaux éléments en faveur de l'existence de facteurs de risques environnementaux et professionnels pour la sarcoïdose.

Exposition pré- et post-natale aux examens médicaux diagnostiques et risque de cancer du cerveau chez l'enfant et l'adolescent 83

Helene BAYSSON

Les cancers du cerveau représentent les tumeurs solides les plus fréquentes chez l'enfant. Les facteurs de risques connus sont quelques rares syndromes génétiques et une exposition élevée aux rayonnements ionisants, de la tête et du cou. Les résultats des études épidémiologiques sont aujourd'hui controversés et les scientifiques s'interrogent sur les effets des rayonnements ionisants utilisés lors d'examens médicaux diagnostiques, en particulier chez l'enfant. L'étude de Tettamanti et al. ne met pas en évidence d'association significative entre le risque de cancer du cerveau et l'exposition prénatale et postnatale à des examens médicaux (tous types d'examens confondus). Cependant, une association (non significative) est observée entre le risque de cancer du cerveau et l'exposition à un scanner de la tête et du cou, en adéquation avec les résultats déjà obtenus dans plusieurs études épidémiologiques de cohorte sur le risque de cancer après examens scanner durant l'enfance. Le faible effectif de l'étude ne permet pas d'atteindre la puissance suffisante pour mettre en évidence un risque faible. En outre, un biais de mémoire ne peut pas être écarté car les expositions passées sont retracées en interrogeant l'enfant et ses parents, sur les examens médicaux diagnostiques et sur les conditions médicales (blessures à la tête, fièvre, jaunisse) pendant la période pré et post - natale.

Effets des mélanges de phtalates à faibles doses sur la reproduction.....86

Myriam BOUSLAMA

L'approche « substance par substance » utilisée dans le cadre de l'évaluation des risques des phtalates ne reflète pas l'exposition combinée à ces substances de la population humaine. Cette note présente deux études expérimentales portant sur les effets de mélanges de phtalates, à des doses considérées comme suffisamment faibles pour ne pas avoir d'effets observables lorsqu'ils sont testés séparément. Les résultats obtenus apportent des preuves de concept de l'effet cocktail des phtalates sur les systèmes reproducteurs mâle et femelle. Les modèles d'évaluation des risques cumulés peuvent s'appuyer sur ces nouvelles données toxicologiques pour déterminer des nouvelles valeurs de référence protégeant suffisamment contre les effets de ces mélanges.

Bisphénols A et F : leur exposition prénatale favorise les troubles anxieux et perturbent l'intégrité synaptique chez la souris.90

Agnès PETIT-PAITEL

Malgré l'interdiction de son utilisation depuis 2015, nous sommes toujours exposés quotidiennement à diverses sources de bisphénol A (BPA), un perturbateur endocrinien dont les effets néfastes sont reconnus, y compris sur le cerveau. Les articles de cette note visent les conséquences comportementales d'une exposition périnatale au BPA ou à l'un de ses substituts structuraux, le BPF. Le premier article montre que des faibles doses de BPA altèrent l'intégrité synaptique et favorise l'anxiété des souris exposées *in utero*. Le second article montre que le BPF favorise également les comportements anxio-dépressifs chez les souris femelles exposées *in utero*. Ces effets s'avèrent plus marqués que ceux du BPA, ce qui montre son absence d'innocuité.

Outils et méthodes 95**Pollution de l'air et maladies neurodégénératives : regard sur l'exposition96**

Gilles MAIGNANT

Avec le vieillissement général de la population, les maladies neurodégénératives constituent actuellement l'un des enjeux majeurs en termes de médecine avec un fort impact sociétal et économique. De nombreuses études ont montré un lien entre l'exposition à la pollution de l'air sur les fonctions cognitives et la survenue de maladies respiratoires ou cardiovasculaires. Cette note apporte une nouvelle connaissance sur le rôle de la pollution de l'air dans le développement d'autres maladies comme la démence, la maladie de Parkinson ou la sclérose en plaques. Basées sur des cohortes au Canada et aux États-Unis, les deux études ont démontré un lien statistique entre exposition à la pollution de l'air et signes de démence ou d'altération des fonctions cognitives, résultats qu'il faudrait encore approfondir notamment en les confrontant à d'autres aspects socioéconomiques (pauvreté, activités physiques etc.). Néanmoins, cette note apporte un regard neuf sur l'impact de la pollution sur ce type de maladies.

Risques sanitaires et société..... 99**Environnement socio-économique et incidence des cancers en France 100**

Helene BAYSSON

L'objectif de l'étude de Bryère et al. parue dans le *Bulletin épidémiologique hebdomadaire* (BEH) de février 2017 était d'évaluer l'influence de l'environnement socioéconomique sur l'incidence des cancers, pour chacune des 15 tumeurs solides et des trois hémopathies malignes les plus fréquentes en France. L'analyse a porté sur les données des registres de cancers français, membres du réseau Francim (Réseau français des registres des cancers) pour les diagnostics de cancers réalisés entre janvier 2006 et décembre 2009. L'indice européen agrégé de défavorisation sociale (European Deprivation Index – EDI) a été utilisé pour évaluer l'environnement socioéconomique. Les auteurs concluent que près de 15 000 cas de cancers pourraient être évités en France chaque année avec l'amélioration des conditions de vie et la promotion de la santé des populations les plus défavorisées. Ce gain potentiel serait plus important pour les hommes que pour les femmes et maximal vis-à-vis du cancer du poumon.

Les troubles musculo-squelettiques : mise en place d'indicateurs pour améliorer les politiques en santé publique dans le champ santé/travail..... 102

Isabelle CASTELLAN

Les troubles musculo-squelettiques (TMS) pathologies de l'appareil locomoteur potentiellement liées à une hyper-sollicitation d'origine professionnelle, sont considérés comme un enjeu majeur en santé au travail et en santé publique. La cohorte Constances a été utilisée pour étudier la prévalence de ces troubles dans la population générale, en fonction des caractéristiques démographiques et socioprofessionnelles, y compris chez des travailleurs n'ayant pas ou peu accès à la médecine du travail, comme les travailleurs intérimaires. L'échantillon a été restreint à 28 914 personnes tirées au sort entre 2012 et 2013, âgées de 30 à 69 ans. Les TMS persistants du membre supérieur, du rachis et du genou, renseignés par un questionnaire de style « Nordique », et huit facteurs biomécaniques ont été étudiés. Les prévalences pondérées de TMS et d'exposition ont été estimées en stratifiant sur quatre variables sociodémographiques (sexe, classes d'âge, profession et catégorie sociale à l'inclusion, type de contrat de travail). Des indicateurs, tels que la prévalence des douleurs persistantes du membre supérieur, du rachis et du genou et de l'exposition aux facteurs biomécaniques ont été calculés, grâce à cette cohorte Constances, sur une partie de la population française, et plus particulièrement sur des populations vulnérables (travailleurs vieillissants et précaires). Dans l'objectif d'améliorer les politiques en santé publique, il faudrait intégrer les aspects santé et travail de la population d'une manière globale, et poursuivre ce type d'études épidémiologiques.

Les troubles musculo-squelettiques chez des travailleuses saisonnières : analyse du travail réel dans une perspective du genre..... 105

Isabelle CASTELLAN

Le travail saisonnier est reconnu comme un « travail atypique » avec des durées de travail variables et longues dans les secteurs à forte saisonnalité. La réalité de ce type de travail est peu connue et encore moins selon une perspective du genre, c'est-à-dire concernant les rapports sociaux du sexe. L'étude ergonomique centrée sur l'analyse de l'activité de seize travailleuses saisonnières dans l'industrie de la transformation du crabe a permis de mettre en évidence l'importance de la prise en compte de divers indicateurs temporels, tels que le nombre maximal d'heures par semaine, le nombre maximal d'heures par jour ou encore le nombre de jours consécutifs au travail. L'évolution des heures travaillées au cours de la saison, l'intensité du travail et sa variation constituent, entre autres, des indicateurs incontournables pour l'étude du travail saisonnier et la santé des travailleuses. Cette analyse selon une perspective du genre a permis d'identifier les déterminants à prendre en compte, afin de proposer une véritable démarche de prévention des problèmes musculo-squelettiques dans ce secteur professionnel.

Les notes d'actualité scientifique reflètent le point de vue des équipes scientifiques partenaires et n'engagent nullement le Comité éditorial ou l'Anses.

anses

agence nationale de sécurité sanitaire
alimentation, environnement, travail



Connaître, évaluer, protéger

Bulletin de veille BVS scientifique

Édition scientifique • Bulletin de veille n° 33 • Avril 2018
Notes d'actualité scientifique

Agents physiques

Nanoparticules d'argent : impacts au niveau des transmissions glutamatergiques et sur la régulation hormonale de la fonction de reproduction

Isabelle PASSAGNE | isabelle.passagne@u-bordeaux.fr

Université de Bordeaux - Inserm 1034 « Biologie des maladies cardiovasculaires » - Bordeaux

Mots clés : Nanoparticules, toxicité, neurotoxicité, neurones glutamatergiques, régulation hormonale

Selon l'inventaire du Woodrow Wilson Institute (www.wilsoncenter.org/article/new-nanotechnology-consumer-products-inventory), environ 30% des produits sur le marché à base de nanoparticules (NPs) contiennent de l'argent (AgNP). Ces nanoparticules sont présentes dans les cosmétiques, les emballages alimentaires, l'alimentation, les textiles et dans les équipements médicaux. Bien que leur commercialisation suscite beaucoup d'intérêt du fait de leur propriété antimicrobienne et antifongique, certaines inquiétudes sont soulevées quant à leur toxicité. En effet, il a été montré que les AgNP pénètrent dans l'organisme et atteignent certains organes, comme le cerveau (1). L'accumulation dans le parenchyme cérébral conduit à étudier leurs effets sur les neurones. L'article de Begum et al. aborde les effets induits par ces AgNP sur les neurones glutamatergiques, étant donné que la neurotransmission glutamatergique permet d'assurer les fonctions cognitives, fonctions perturbées dans certaines maladies neurodégénératives. La toxicité pour la reproduction et le développement est aussi une partie importante de l'évaluation toxicologique. Une toxicité testiculaire et ovarienne a bien été décrite mais les données restent encore très limitées. L'article de Dziendzikowska et al. s'interroge sur des effets des AgNP sur les hormones de la reproduction. Ce type d'étude permet d'ouvrir une nouvelle voie relative au risque éventuel de perturbation endocrinienne.

Les nanoparticules d'argent présentent une neurotoxicité dépendante de la dose et de leur revêtement, sur des neurones glutamatergiques

Begum A-N. et al. (2016). Silver nanoparticles exhibit coating and dose-dependent neurotoxicity in glutamatergic neurons derived from human embryonic stem cells. *Neurotoxicology*, vol.57: p.45-53.

Résumé

Ce travail cible l'évaluation de la neurotoxicité des AgNP avec l'étude des mécanismes moléculaires pouvant être à l'origine d'une dégénérescence des neurones glutamatergiques. Le modèle cellulaire utilisé a été établi à partir de cellules souches embryonnaires humaines différenciées en neurones glutamatergiques. Deux types de revêtements d'AgNP (taille 20nm) sont testés : citrate (AgSC) ou PVP* (AgSP). Le revêtement citrate confère une meilleure dispersion colloïdale que le PVP*.

Les auteurs ont évalué les effets de ces AgNP sur la viabilité cellulaire, la morphologie et la croissance neuronale. L'exposition aux deux types d'AgNP induit une diminution de la viabilité cellulaire des neurones, révélant une neurotoxicité dose-dépendante. Les AgSC se sont avérées les plus toxiques conduisant à une réduction importante de la croissance des neurites*. Morphologiquement, les neurones exposés aux AgSC, perdent leurs extensions neuritiques ou épines dendritiques*, de façon dose dépendante. La présence de modifications au niveau des

branches dendritiques et du corps neuronal signe les dommages neuronaux. Les neurones traités avec AgSC présentent un taux d'ERO* plus élevé comparativement aux neurones traités par AgSP. Un influx accru de Ca^{2+} avec augmentation de l'expression de la calmoduline* et de la NOS* neuronale est retrouvé avec les AgSC, favorisant une excitotoxicité*. En effet, l'entrée de Ca^{2+} dans le neurone post synaptique est responsable de la dégénérescence par sur-stimulation des neurones. Les AgSC entraînent un effet sur les synapses glutamatergiques révélé par la diminution importante de la co-localisation des protéines PSD95* et vGlut1*. La déficience de ces protéines traduit de nouveau une excitotoxicité des neurones. Cet article montre également que l'exposition aux AgSP et aux AgSC réduit l'expression protéique de MAP2*, un marqueur d'intégrité neuronale. Les AgSC affectent fortement l'expression des protéines NR2A et NR2B* du récepteur NMDA* activé par le glutamate. Enfin, les deux AgNPs testées réduisent la phosphorylation de GSK3 α/β * au niveau de la sérine 9. Par contre, seuls les AgSC augmentent la phosphorylation de GSK3 α/β au niveau de la tyrosine. Cette modification favorise la phosphorylation de la protéine Tau*, comme mise en évidence dans cette étude. La phosphorylation de Tau est spécifique des AgSC. Les auteurs repèrent des modifications de l'intégration de la protéine Tau au niveau microtubules, phénomène typique dans la maladie d'Alzheimer.

Commentaire

Le choix des NPs testées est judicieux du fait que le citrate et le polyvinylpyrrolidone (PVP) sont les agents de revêtement les plus couramment utilisés pour stabiliser les AgNP. Les auteurs partent de l'hypothèse que la nature du revêtement influe sur la toxicité alors que les concentrations en ion argent sont identiques. Il est montré que les AgSP sont moins toxiques que les Ag-SC. Leur moins bonne stabilisation par le revêtement PVP et la formation d'agglomérats, diminuent leur réactivité de surface et peut expliquer leur moindre réactivité biologique. Il aurait été intéressant dans cette étude de démontrer que les Ag-NPs maintiennent leur structure intacte après pénétration dans les neurones. Ceci aurait permis de démontrer que l'effet toxique observé est bien lié à la nanoparticule elle-même et non à l'ion argent libéré.

Ce travail est surtout très intéressant par l'approche neurotoxique liées aux neurones glutamatergiques. Les résultats posent la question d'une neurotoxicité glutamatergiques avec des effets proches de ceux survenant dans des pathologies dégénératives comme Alzheimer. En effet, l'hyperphosphorylation anormale de la protéine Tau, observé dans cette étude, peut conduire à des enchevêtrements neurofibrillaires. Le nombre d'enchevêtrements est notamment un marqueur de la sévérité de la maladie d'Alzheimer (2). De même, les modifications des épines dendritiques sont souvent impliquées dans des effets sur l'apprentissage et la mémoire. Chez des patients atteints de la Maladie Alzheimer, une baisse importante du transporteur vGlut1 a pu être aussi observée au niveau du cortex préfrontal (3).

Les auteurs émettent un schéma mécanistique déclenché par la production d'ERO. Cette production provoquerait une entrée excessive de Ca^{2+} dans les neurones et une augmentation de NOS neuronale via la liaison de la calmoduline au calcium. La formation de NO affecte le statut de phosphorylation de la GSK-3 β et de Tau. La discussion autour des résultats obtenus et du mécanisme est peu développé, comme notamment pour PSD95, protéine liée à la survenue de troubles neurodégénératifs (4). Au vu des résultats prometteurs, il paraît important d'entreprendre des investigations chez l'animal où la perturbation des fonctions cognitives pourrait être étudiée. De plus, ce travail effectué sur un modèle cellulaire neuronal mime les conséquences d'une exposition aiguë ; étudier l'impact d'une exposition chronique sur les transmissions glutamatergiques serait plus pertinente.

Enfin, il apparaît dans cette étude que les perturbations au niveau de la protéine Tau varient selon la nature du revêtement. Ces éléments pourraient être pris en compte afin d'utiliser un revêtement qui permet de réduire le risque de neurotoxicité.

Effets progressifs des nanoparticules d'argent sur la régulation hormonale de la reproduction chez des rats mâles

Dziendzikowska K. et al. (2016). Progressive effects of silver nanoparticles on hormonal regulation of reproduction in male rats. *Toxicol Appl Pharmacol*, vol.313: p.35-46

Résumé

Cette étude vise à évaluer les effets des AgNP, en termes de régulation hormonale de la fonction reproductive et la stéroïdogénèse*. L'étude est menée sur des rats Wistar mâles âgés de 14 semaines. Les rats reçoivent une dose unique par voie intraveineuse. Des AgNP de 20nm sont administrées à différentes doses (groupes Ag I: 5mg/kg et Ag II: 10mg/kg) ainsi que des particules de 200 nm à la dose de 5mg/kg (groupe Ag III). L'analyse des paramètres biologiques est effectuée à 24h, 7j et 28j post-injection. L'exposition aux particules altère la concentration plasmatique de l'hormone LH*. Cette observation dépend de la dose et de la taille des particules. Les niveaux plasmatiques de testostérone* et de DHT* diminuent dans les trois groupes traités et ceci significativement à 7j et à 28j. Cette diminution plasmatique en androgènes s'accompagne d'une diminution significative de la concentration intratesticulaire de DHT*. Pour le volet oestrogénique, une augmentation accrue de 17 β -œstradiol est observée avec le groupe traité par les AgNP à la dose de 10mg/kg (Ag II). Cette augmentation est la plus importante à 24h suggérant des effets oestrogéniques des AgNP, conduisant à des troubles de la spermatogénèse et de la stéroïdogénèse*. Les concentrations de PRL* et de SHBG* ne présentent pas de différence significative. Seul le cholestérol varie, avec une augmentation significative à 7j avec les AgNPs (Ag I et Ag II) et à 28j pour les plus grosses particules (Ag III). Le traitement des animaux avec les différentes particules conduit à des modifications des concentrations testiculaires d'enzymes impliquées dans la synthèse hormonale : l'aromatase (Aro*) et la Srd5a1*. De plus, l'expression de gènes impliqués dans la stéroïdogénèse est diminuée. Ces modifications sont particulièrement visibles à 28j notamment pour le gène Hsd3b1*. En raison de la multitude de variations observées, les auteurs ont réalisé une analyse discriminante (ANCOVA). Les meilleurs paramètres qui séparent le groupe témoin des autres groupes sont les concentrations plasmatiques et intra-testiculaires de DHT* ainsi que l'expression testiculaire du gène Srd5a1*. L'analyse discriminante du groupe Ag I et Ag II permet d'étudier l'impact dose-dépendante des nanoparticules. Les groupes Ag I et Ag II sont discriminés par les paramètres suivants : l'expression protéique de l'aromatase et de Srd5a1* testiculaire, l'expression du gène testiculaire Hsd3b1*, la concentration plasmatique de LH* et de 17 β -œstradiol ainsi que la concentration testiculaire en testostérone.

Commentaire

Le schéma d'étude réalisé sur les animaux est bien décrit. La voie d'exposition est bien choisie évitant toute variation liée à l'absorption. Elle permet l'exposition systémique avec 100% de biodisponibilité et les doses administrées sont assez proches de celles pouvant être retrouvées chez l'homme en cas d'exposition médicale. Par contre, cette étude reproduit un schéma d'exposition aiguë avec une dose unique administrée alors que l'exposition chez l'homme est une exposition chronique. De plus, il aurait été intéressant de faire une analyse histologique des testicules associée à des analyses de la qualité spermatique, afin de

développer une approche intégrative mettant en lien ces données avec celles de l'étude fonctionnelle. En effet, dans d'autres études, une diminution du nombre de spermatozoïdes et une augmentation des lésions de l'ADN dans les cellules germinales ont été observées (5-6). Cette étude aurait pu être complétée par l'évaluation des capacités de reproduction ainsi que par la quantification de l'Ag dans le tissu testiculaire, ce qui aurait permis de déterminer la biodistribution des particules et donc le passage à travers la barrière hémato-testiculaire.

Néanmoins, ce travail démontre bien les effets des AgNP sur la production de testostérone, de DHT et de 17 β -œstradiol perturbant à la fois la spermatogenèse et la stéroïdogenèse. La diminution plasmatique de testostérone associée à une augmentation de LH indique une anomalie de la fonction gonadique, qui est souvent retrouvée chez les hommes infertiles. Cela résulterait d'une diminution de la sensibilité des cellules de Leydig à la LH, due à une diminution des récepteurs LH. L'implication des radicaux libres dans ce processus n'est pas à exclure.

Malgré la démonstration des effets des AgNP sur les hormones de la reproduction chez le mâle, des études complémentaires devraient être menées en prenant en compte les effets d'une exposition chronique ainsi que la taille et le revêtement des AgNP.

CONCLUSION GÉNÉRALE

Bien que les nanoparticules d'argent soient utilisées dans de nombreuses applications commerciales, la connaissance des risques associés est incomplète. L'argent est surtout utilisé pour son action antimicrobienne qui provient de sa capacité à générer des espèces oxygénées réactives et d'inactiver les enzymes microbiennes. Devant les incertitudes de leur toxicité, le Comité scientifique des risques sanitaires émergents et nouveaux de la Commission européenne (CSRSEN) soumet fin 2013, un avis scientifique préliminaire, visant à évaluer les effets AgNP en termes de sécurité pour la santé et l'environnement. Le comité souligne que face à leur utilisation généralisée et répétée dans le temps, on ne peut exclure l'apparition d'effets additionnels. Dès 2011, l'Anses a été saisie, notamment par la Direction générale de la santé (DGS) et la Direction générale de la concurrence, de la consommation et de la répression des fraudes (DGCCRF), dans le but de mettre à jour les connaissances sur les risques sanitaires et environnementaux liés à l'exposition aux AgNP.

D'après les études de toxicocinétique, une accumulation d'AgNP est observée dans le foie, la rate, les reins et les poumons mais également au niveau du tissu cérébral via un passage de la barrière hémato-encéphalique. Leur passage cérébral peut également s'effectuer via le bulbe olfactif (1,7-8).

Par conséquent, l'étude des effets de Ag-NP au niveau du système nerveux central semble un domaine de recherche important. Malheureusement, peu de données existent à l'heure actuelle sur la neurotoxicité de ces nanoparticules. Dans l'article de Begum et al, les auteurs mettent en évidence une hyperphosphorylation de la protéine Tau, connue pour être impliquée dans certaines maladies neurodégénératives. Cette étude montre aussi l'implication d'autres protéines jouant un rôle essentiel dans les transmissions glutaminergiques. De plus, l'induction d'un stress oxydant accentue l'afflux de calcium au niveau neuronal et conduit à une excitotoxicité neuronale et à la phosphorylation de protéines clés. Les altérations neuronales peuvent donc être reliées à l'activation des récepteurs glutamatergiques NMDA. Ces résultats appuient fortement les données obtenues dans une étude précédente, montrant l'altération des fonctions cognitives des rats après une exposition intranasale prolongée. Cet article ouvre une voie intéressante de recherche.

De façon identique, les études sur la fonction de reproduction restent peu nombreuses. Les données bibliographiques s'orientent vers une diminution du nombre de spermatozoïdes ainsi qu'une augmentation du nombre de spermatozoïdes anormaux. L'article de Dziendzikowska et al. détermine les concentrations plasmatiques et testiculaires de différentes hormones, androgènes et oestrogènes après exposition aux AgNP et des gènes impliqués dans la stéroïdogenèse et le métabolisme des stéroïdes. Les résultats révèlent que les AgNP altèrent la concentration plasmatique de LH et de testostérone. Les niveaux plasmatiques et testiculaires de DHT sont aussi diminués. Les modifications des niveaux hormonaux de LH et de testostérone sont souvent à l'origine de lésions testiculaires, de dysfonctionnement de la spermatogenèse et donc d'infertilité. Une dérégulation des gènes impliqués dans la stéroïdogenèse et le métabolisme des stéroïdes est aussi observée. Cet article prouve l'impact hormonal des AgNP sur la spermatogenèse et sur la stéroïdogenèse. Cette étude est une première amorce vers des travaux considérant les AgNP comme des perturbateurs endocriniens. Dans une étude précédente, il a d'ailleurs été montré que, de faibles concentrations d'AgNP conduisent à des effets de perturbateurs endocriniens au cours du développement de larves de xénopes, avec perturbation de l'hormone thyroïdienne TH (9).

GENERAL CONCLUSION

Although silver nanoparticles are used in many commercial applications, knowledge of associated risks is incomplete. Toxicokinetics studies show preferential accumulation in the liver, spleen, kidney, and lung, but also in cerebral tissue. These nanoparticles penetrate the brain tissue after blood-brain barrier passage. Their passage through the brain can also be via the olfactory bulb. The study of the impacts on central nervous system seems to be an important area of research. Unfortunately, literature is poor. In The first article, the authors were focused on glutamatergic effects and demonstrated a hyperphosphorylation of Tau protein, known to be implicated in neurodegenerative disease. Here, oxidative stress induces the calcium influx in neuronal cells, leading to excitotoxicity. Neuronal alteration is related to the activation of NMDA glutamatergic receptors. This article opens an interesting research pathway in neurotoxicity. Few studies on reproductive function were published. The second publication determines the plasma and testicular levels of hormones such as androgens and estrogens after exposure to AgNP through one single injection. The results reveal that AgNP alter the LH and testosterone concentrations. Plasma and testicular levels of DHT are also decreased. Changes in hormone levels of LH and testosterone are often the cause of testicular lesions, dysfunction of spermatogenesis and therefore infertility. This study has demonstrated a negative effect on gene expression involved in steroidogenesis and steroid metabolism. These data indicated that AgNP are implicated in the disruption of steroidogenesis and spermatogenesis. This study is a first step towards work considering AgNP as endocrine disruptors.

Lexique

Aromatase : Enzyme responsable de la biosynthèse des œstrogènes. Cette enzyme transforme la testostérone en œstradiol

Calmoduline : Protéine qui se lie au calcium intracellulaire. La liaison des ions calcium à la calmoduline, augmente la synthèse d'AMPc. Ceci peut permettre la phosphorylation ou la déphosphorylation de protéines. La calmoduline est nécessaire à l'action des NO synthases

Dihydrotestostérone (DHT) : Hormone androgène provenant surtout de la testostérone chez l'homme. Cette hormone a pour fonction de stimuler le développement et le maintien des caractères sexuels masculins

17 β-œstradiol (E2) : Hormone nécessaire au maintien de la fertilité et des caractères sexuels secondaires chez la femme. C'est un dérivé naturel du métabolisme du cholestérol

Epines dendritiques : Petites protrusions au niveau des dendrites de certains neurones, sites de réception et d'intégration de signaux synaptiques des axones des neurones pré-synaptiques

ERO : Espèces réactives de l'oxygène

Excitotoxicité : Processus par lequel les neurones post-synaptiques sont gravement endommagés ou détruits. Ce phénomène survient lorsque l'activation des récepteurs glutamatergiques est trop forte ou trop prolongée. L'entrée de calcium dans le neurone post synaptique est responsable de la dégénérescence neuronale liée à l'excitotoxicité

GSK3α/β : Glycogène synthase kinase-3, une serine-thréonine kinase. La GSK3α/β a été impliquée dans la survenue de troubles psychotiques et de neurodégénérescence

Hsd3b1 : Gène qui code pour des enzymes impliquées dans les étapes de la biosynthèse de la testostérone

Hormone lutéinisante (LH) : Produite par l'hypophyse. C'est une des deux hormones gonadotrophines qui agit sur la fonction gonadique

MAP2 : Protéine du cytosquelette, spécifique aux neurones, qui est utilisée comme marqueur du phénotype neuronal. Elle est impliquée dans l'assemblage des microtubules

Neurites : Prolongement cytoplasmique neuronal qui donne à termes soit un axone soit une dendrite. Lors de la croissance, les neurites correspondent aux excroissances partant du corps neuronal et qui vont se différencier par la suite en dendrites ou axones

NMDA (N-méthyl-D-aspartate) : Récepteur ionotropique du glutamate, principal neurotransmetteur excitateur du système nerveux central. Ce récepteur-canal s'ouvre lors de la fixation du glutamate et laisse ensuite entrer les ions Na⁺ et surtout Ca²⁺. Ces récepteurs du glutamate assurent le signal entre le neurone pré-synaptique et post-synaptique. Une activation excessive de ce récepteur peut conduire à une dégénérescence neuronale

NOS neuronale : Enzyme constitutivement exprimée dans les neurones. Son activité enzymatique est régulée par Ca²⁺ et la calmoduline. La NOS neuronale est impliquée dans la modulation de fonctions physiologiques telles que l'apprentissage, la mémoire et la neurogenèse. Elle permet la production de NO ou monoxyde d'azote et favorise ainsi la synthèse du neurotransmetteur excitateur, le glutamate

NR2A et NR2B : Sous-unités composant le récepteur NMDA
Prolactine (PRL) : Hormone produite par l'hypophyse. Cette hormone présente en faible quantité chez les hommes et chez les femmes en dehors de la grossesse. Son rôle principal est de provoquer la lactation

PSD95 ou densité post synaptique (PSD) : Protéine présente au niveau des densités postsynaptiques des neurones. Elle se lie à un ou plusieurs sous-types de récepteurs ionotropiques du glutamate. Elle est impliquée dans l'ancrage des protéines synaptiques

Polyvinylpyrrolidone (PVP) : Issue de la polymérisation de la N-vinylpyrrolidone. C'est un bon agent de dispersion

Sex Hormone-Binding Globulin (SHBG) : Glycoprotéine qui se lie à des hormones sexuelles, comme la testostérone ou l'œstradiol

Srd5a1 : Isoenzyme de la 5-alpha réductase, ou stéroïde-5-alpha réductase qui catalyse de la testostérone en dihydrotestostérone

Stéroïdogénèse : Processus de synthèse des hormones stéroïdiennes, incluant notamment la synthèse des hormones mâles, du cholestérol ou des corticoïdes

vGLUT1 : Transporteur du glutamate présent dans les axones de neurones glutamatergiques

Tau : Protéines qui interviennent dans la maturation des neurones et notamment dans la formation des axones. Dans diverses maladies neurodégénératives, l'hyperphosphorylation des protéines Tau a été mise en évidence. Ce phénomène pourrait être lié à un déséquilibre entre kinases et phosphatases.

Testostérone : Hormone sécrétée majoritairement par les testicules et en moindre quantité par les ovaires. Elle joue un rôle crucial dans la spermatogénèse et la maturation des spermatozoïdes.

Publications de référence

1 Loeschner K, Hadrup N, Qvortrup K, et al. Distribution of silver in rats following 28 days of repeated oral exposure to silver nanoparticles or silver acetate. *Part Fibre Toxicol* 2011; **8**:18.

2 Iqbal K, Liu F, Gong C and Grundke-Iqbal I. Tau in Alzheimer Disease and Related Tauopathies. *Curr Alzheimer Res* 2010; **7(8)**:656–664.

3 Kashani A, Lepicard E, Poirel O, et al. Loss of VGLUT1 and VGLUT2 in the prefrontal cortex is correlated with cognitive decline in Alzheimer disease. *Neurobiol. Aging* 2008; **29**:1619-1630.

4 Shao CY, Mirra SS, Sait HB, et al. Postsynaptic degeneration as revealed by PSD-95 reduction occurs after advanced A β and tau pathology in transgenic mouse models of Alzheimer's disease. *Acta Neuropathol* 2011; **122(3)**:285-92.

5 Garcia TX, Costa GM, França LR, et al. Sub-acute intravenous administration of silver nanoparticles in male mice alters Leydig cell function and testosterone levels. *Reprod Toxicol* 2014; **45**:59-70.

6 Ahmed SM, Abdelrahman SA, Shalaby SM. Evaluating the effect of silver nanoparticles on testes of adult albino rats (histological, immunohistochemical and biochemical study). *J Mol Histol.* 2017; **48(1)**:9-27.

7 Oberdörster G, Elder A, Rinderknecht A. Nanoparticles and the brain: cause for concern? *J Nanosci Nanotechnol* 2009; **9(8)**:4996-5007

8 Ji JH, Jung JH, Kim SS, et al. Twenty-eight-day inhalation toxicity study of silver nanoparticles in Sprague-Dawley rats. *Inhal Toxicol* 2007; **9(10)**:857-71.

9 Carew AC, Hoque ME, Metcalfe CD, et al. Chronic sublethal exposure to silver nanoparticles disrupts thyroid hormone signaling during *Xenopus laevis* metamorphosis. *Aquat Toxicol* 2015; **159**:99-108

Revue de la littérature

Ema M, Okuda H, Gamo M, et al. A review of reproductive and developmental toxicity of silver nanoparticles in laboratory animals. *Reprod Toxicol.* 2017; **67**:149-164.

Riaz Ahmed KB, Nagy AM, Brown RP, et al. Silver nanoparticles: Significance of physicochemical properties and assay interference on the interpretation of in vitro cytotoxicity studies. *Toxicol In Vitro* 2017; **38**:179-192.

Song B, Zhang Y, Liu J. Is Neurotoxicity of Metallic Nanoparticles the Cascades of Oxidative Stress? *Nanoscale Res Lett* 2016; **11**: 291.

Song B, Zhou T, Liu J, et al. Involvement of Programmed Cell Death in Neurotoxicity of Metallic Nanoparticles: Recent Advances and Future Perspectives. *Nanoscale Res Lett* 2016; **11**: 484

Liens d'intérêts

Les auteurs déclarent n'avoir aucun lien d'intérêt.

Impacts d'une exposition aiguë par voie orale, ou chronique par voie respiratoire, à des nanoparticules de dioxyde de titane et potentiels effets physiopathologiques chez le rongeur

Jérôme GAY-QUEHEILLARD | jerome.gay@u-picardie.fr

Université de Picardie Jules Verne - Laboratoire PériTox UMR-I-01 Ineris - Amiens

Mots clés : Carcinogénèse, inflammation, intestin, nanomatériaux, poumon

Les nanomatériaux correspondent à des particules dont la taille ou la structure comporte au moins une dimension comprise entre 1 et 100 nanomètres environ, ce qui leur confère des propriétés physiques, chimiques ou biologiques particulières. Désormais les nanomatériaux font partie de notre vie courante puisqu'ils sont retrouvés dans la composition de très nombreux produits comme les aliments, les cosmétiques, les peintures, textiles, ou ont un intérêt pour certaines applications médicales. Les connaissances actuelles montrent que l'exposition à ces matériaux induit un risque potentiel pour la santé humaine et pour l'environnement et la diversité des nano-objets générés et des voies d'exposition rend complexe l'évaluation des risques liés aux nanomatériaux et les incertitudes demeurent importantes. L'ensemble des données scientifiques disponibles dans la littérature présente des résultats *in vitro* et *in vivo* sur modèles animaux, soulignant en particulier la capacité de ces nanomatériaux à traverser les membranes biologiques et la toxicité de certains d'entre eux (1-3). Un des facteurs limitants dans la compréhension de l'impact réel de ces molécules provient également de l'absence de données chez l'Homme et de l'absence d'études épidémiologiques. Dans la première étude, axée sur les impacts digestifs encore peu étudiés, les auteurs ont évalué les effets modulateurs de faibles doses de nanoparticules de dioxyde de titane (TiO₂) sur les cellules intestinales *in vivo* et *in vitro*, un scénario proche de l'exposition quotidienne chez l'Homme. Les résultats *in vivo* ont révélé une augmentation de la hauteur villositaire chez les rats mâles uniquement, accompagnée de dépôts tissulaires et d'une augmentation du taux de testostérone. Les résultats obtenus *in vitro* sur cellules HT-29 ont permis d'identifier une pénétration des nanoparticules dans les cellules, une absence de stress oxydant ou d'altération cellulaire. Par contre, en association avec la testostérone ou de l'insulin-like growth factor-1 (IGF-1)*, les nanoparticules induisent une augmentation de la prolifération cellulaire, un paramètre important à prendre en compte. Dans la seconde étude, axée sur les impacts pulmonaires, les auteurs ont évalué les effets d'une exposition chronique aux nanoparticules de TiO₂ par inhalation chez des souris mâles. L'inhalation chronique de nanoparticules chez les rongeurs permet d'appréhender les potentiels effets carcinogènes de molécules mais les résultats peuvent apparaître contradictoires. Les auteurs ont souhaité identifier l'effet tumorigène des nanoparticules de TiO₂ administrées pendant 9 mois consécutifs et un état inflammatoire accompagné d'une tumorigénèse pulmonaire a été observé ainsi que la présence de marqueurs biologiques de lésions cellulaires et de tumeurs.

Exposition orale de courte durée à de faibles doses de nanoparticules de dioxyde de titane et potentiels effets modulateurs sur des cellules intestinales

Ammendolia m-g. et al. (2017). Short term oral exposure to low doses of nano-sized TiO₂ and potential modulatory effects on intestinal cells. Food Chem Toxicol, vol.102: p.63-75.

Résumé

Le maintien de l'homéostasie* intestinale est un prérequis pour absorber de manière optimale les différents nutriments issus de la digestion des aliments et prévenir le passage de contaminants environnementaux indésirables.

Le passage de molécules de la taille de nanoparticules est un processus normal au niveau digestif mais les connaissances restent très limitées quant à l'impact sanitaire de nanoparticules produites de façon industrielle et présentes dans l'alimentation (6). Cette étude a permis de mettre en évidence de potentiels effets modulateurs de faibles doses de nanoparticules de dioxyde de titane (anatase, taille < 25 nm, superficie 45-55 m²/g) sur des cellules intestinales *in vivo* (rats mâles et femelles adultes traités pendant cinq jours consécutifs avec une solution de nanoparticules de TiO₂ à 2 ou 1 mg/kg/pc/jour) et *in vitro* (cellules d'adénocarcinome* colorectal humain HT-29 traitées avec des doses équivalentes à 1.8 ; 4.5, 9 et 36 µg/ml pendant 6, 24 et 48 h). Les cellules HT-29 ont été choisies pour mimer la réplication active des cellules situées

sur l'axe cryptes/villosités. Ces cellules ne présentent pas de signe de cytotoxicité apparente mais un stress oxydant de courte durée suggérant une capacité d'adaptation des cellules intestinales envers les potentiels effets des nanoparticules, à la différence d'autres types cellulaires comme les kératinocytes, subissant stress oxydant et apoptose (8). L'analyse histopathologique tissulaire au niveau de l'intestin a révélé une augmentation de la longueur des villosités intestinales et ce uniquement chez les rats mâles, ainsi que des dépôts de particules de TiO₂. Ces altérations s'accompagnent d'une augmentation de testostérone. Compte tenu de l'effet sexe-spécifique observé *in vivo*, des cellules HT-29 ont été mises au contact de nanoparticules de TiO₂ et stimulées ou non avec de la testostérone et de l'IGF-1. L'évaluation de la cytotoxicité et du stress oxydant n'a permis d'identifier d'altération cellulaire ni de stress oxydant à faible dose même si les nanoparticules ont été retrouvées dans les cellules. La co-exposition nanoparticules et testostérone ou IGF-1 a permis d'augmenter la prolifération des cellules. Ainsi, l'étude conclut à la nécessité de porter une attention particulière à l'activité de modulation de la prolifération cellulaire de ces nanomatériaux.

Commentaire

Les effets potentiels des nanoparticules sur la santé apparaissent très dépendants de la voie d'administration, de la concentration et de la taille de ces nanomatériaux. Le système digestif est une surface d'échanges considérable, indispensable à l'absorption de nutriments vitaux pour l'organisme, mais il peut être également très vulnérable à des molécules présentes dans l'environnement ou l'alimentation. Outre des effets sur l'organe lui-même, la barrière intestinale est perméable à un grand nombre de molécules. Dans une étude récente, Tassinari *et al* (7) ont montré un dépôt de particules au sein des organes internes comme la rate et les ovaires, tout comme des effets sur la production d'hormones, suite à une exposition à des nanoparticules de TiO₂ à des doses représentatives de l'exposition quotidienne chez l'Homme. Cette donnée est particulièrement importante pour mettre en évidence de potentiels effets chez l'Homme. Dans le cadre de cette étude, l'originalité réside dans la démarche d'étudier l'impact des nanoparticules de TiO₂ par une double approche, chez l'animal d'une part, et sur des cellules intestinales humaines d'autre part. L'augmentation de l'épaisseur et de la hauteur des villosités intestinales ainsi que du nombre de cellules à mucus chez le rat mâle peut être attribuée notamment à un effet hormonal, susceptible d'impacter également d'autres systèmes physiologiques. Les cellules HT-29 constituent un modèle cellulaire intéressant. Néanmoins, il aurait été approprié d'utiliser des cellules HT-29 MTX sécrétrices de mucus plutôt que des HT-29 classiques pour étudier l'impact des nanoparticules sur l'épithélium intestinal, de par l'interaction probable des nanoparticules avec les mucines de la couche de mucus. Les résultats sur les cellules HT-29 confirment un effet combiné nanoparticules de TiO₂/hormones sur la prolifération cellulaire. L'hyperprolifération et l'hyperplasie cellulaire observées pourraient être des facteurs prédictifs de carcinogénèse intestinale. Cet article fournit des données

intéressantes et nouvelles sur l'impact des nanoparticules de TiO₂ au niveau intestinal mais un temps de contact plus long entre nanoparticules et épithélium apporterait des informations pertinentes et plus fiables quant à l'induction de stress oxydant et de carcinogénèse.

Une exposition chronique à des nanoparticules de dioxyde de titane par voie respiratoire induit une tumorigénèse pulmonaire chez la souris mâle.

Hong F. *et al.* (2017). Chronic nasal exposure to nanoparticulate TiO₂ causes pulmonary tumorigenesis in male mice. *Environ Toxicol.* Vol.32(5): p.1651-57

Résumé

Les essais d'inhalation chronique chez le rongeur servent à rechercher l'existence de processus de carcinogénèse* pulmonaire induits par des molécules et de permettre la caractérisation des risques. Différentes études (4,5) ont confirmé que l'exposition à des nanoparticules de dioxyde de titane (TiO₂) peut induire une inflammation* pulmonaire chronique chez le rat et la souris. Cependant, très peu d'études se sont intéressées à la tumorigénèse* pulmonaire. Cette étude vise à identifier si une exposition à des nanoparticules de TiO₂ (anatase, taille de 208 à 330 nm, principalement 294 nm) par inhalation est susceptible d'induire une tumorigénèse pulmonaire. Les auteurs ont traité des souris mâles à des doses de 1,25, 2,5 et 5 mg/kg de poids corporel (équivalents à 27,5, 55 et 110 µg/souris de TiO₂) tous les jours pendant neuf mois consécutifs. Des paramètres de pathologie pulmonaire, biochimiques dans le liquide de lavage bronchoalvéolaire (LLBA) et des marqueurs tumoraux sériques ont été identifiés. Les auteurs ont mis en évidence un infiltrat inflammatoire, une tumorigénèse pulmonaire et une augmentation significative des taux de lactate déshydrogénase, de phosphatase alcaline et de protéines totales dans le LLBA (marqueurs d'altérations cellulaires). Une augmentation des marqueurs tumoraux sériques est également mesurée (cytokeratin-19, neuron-specific enolase (NSE), squamous cell carcinoma antigen, cancer antigen-125 (CA-125)). Les résultats de cette étude suggèrent que l'inhalation de nanoparticules de TiO₂ pourrait être un facteur de risque dans le développement de tumeurs pulmonaires chez l'Homme.

Commentaire.

Les nanoparticules sont présentes de façon ubiquitaire dans l'environnement et représentent un facteur de risque présumé pour la santé des populations. Au même titre que l'impact des nanoparticules par voie digestive, les impacts physiologiques de nanomatériaux pénétrant dans le corps par voie respiratoire sont mal caractérisés. Cette étude chez la souris est la première soulignant un effet tumorigène des nanoparticules de TiO₂ administrées par inhalation. Différentes études avaient déjà identifié le caractère pro-oxydant et pro-inflammatoire de ces molécules mais pas d'effet tumorigène (9-11). La durée du protocole d'administration (neuf mois consécutifs) chez la souris peut aussi expliquer l'expression de marqueurs tumoraux. Les

auteurs ont notamment identifié une réduction du poids corporel, la présence d'un infiltrat inflammatoire (macrophages, lymphocytes, neutrophiles, éosinophiles), un dysfonctionnement pulmonaire caractérisé par des paramètres biochimiques (lactate déshydrogénase, phosphatase alcaline et protéines totales) au sein du LLBA, ainsi que la présence sérique de divers marqueurs tumoraux d'intérêt (CYFRA 21-1, NSE, CA-125...). Un des aspects particulièrement intéressant de cette étude réside dans le fait que tous les paramètres étudiés ont indiqué des altérations dont le degré est dépendant de la dose de nanoparticules inhalée. Des études complémentaires sont nécessaires afin de mieux caractériser l'impact des nanoparticules de TiO₂ par voie respiratoire et fournir davantage d'arguments scientifiques sur leur potentiel tumorigène. Néanmoins cette étude apporte des données solides sur la capacité des nanoparticules de TiO₂ à induire un processus de tumorigénèse chez le rongeur et permet de renforcer l'intérêt d'étudier l'impact de ces molécules administrées à faibles doses et à long terme sur le système pulmonaire.

CONCLUSION GÉNÉRALE

Les nanoparticules, produites intentionnellement ou non, sont présentes partout dans notre environnement, dans l'air inhalé comme dans notre alimentation. Bien que les perspectives technologiques utilisant des nanomatériaux apparaissent d'un intérêt immense, en particulier dans le domaine de la santé, leurs impacts sanitaires sont encore méconnus. Les effets identifiés sont très dépendants du type de nanoparticules, de leur taille, de leur surface et de leur forme, de leur dose d'administration, et probablement de paramètres physiologiques (hormonaux notamment) propres à chaque individu. Les deux voies majeures de pénétration des nanoparticules dans l'organisme sont la voie pulmonaire (inhalation) et la voie digestive (orale). Les deux articles choisis permettent d'appréhender les impacts sanitaires des nanoparticules de dioxyde de titane (TiO₂) administrées par les voies sus-citées et à différentes doses dans des modèles animaux (rat et souris) et in vitro (cellules). La première étude chez le rat mâle met en évidence principalement un effet du TiO₂ sur la prolifération cellulaire au niveau digestif, également observé sur les cultures de cellules. Un article récent (12) révèle qu'une administration quotidienne de E171*, un colorant alimentaire omniprésent et constitué pour une part de nanoparticules de TiO₂, pendant 100 jours chez le rat, favorise des altérations dans les réponses immunitaires, une microinflammation colique et induit la survenue de lésions préneoplasiques et la croissance de cryptes intestinales aberrantes dans un modèle de carcinogénèse induite chimiquement. Dans le second article, les auteurs ont caractérisé la capacité des nanoparticules de TiO₂ inhalées à induire une inflammation pulmonaire et l'apparition de marqueurs tumoraux pulmonaires.

Ces données expérimentales soulignent la nécessité d'études complémentaires permettant de caractériser davantage les impacts sanitaires des nanoparticules de TiO₂. De plus, ces résultats laissent supposer qu'une inhalation ou une ingestion quotidienne de nanoparticules de TiO₂ pourraient être des facteurs participant à l'induction de tumeurs ou aggravant des lésions cancéreuses chez l'Homme. Il convient cependant de confirmer ces résultats chez des modèles rongeurs avant d'extrapoler à l'Homme avec davantage de fiabilité.

GENERAL CONCLUSION

Nanoscale particles, intentionally produced or not, are found everywhere in our environment, in the inhaled air as in foodstuff. Although technological prospects using nanomaterials are of great interest, particularly in the field of health, their health impacts are still highly unknown, especially since the identified effects are highly dependent on the type of particles, their size, their surface and shape, their dose of administration, and probably of physiological parameters (hormonal status for example), specific to each individual. The two main routes for nanoparticles entry in the body are the pulmonary route (inhalation) and the digestive route (oral). The two selected articles are of interest to explore the health impacts of titanium dioxide (TiO₂) nanoparticles administrated through both routes and different doses in animal models (rats and mice) but also in vitro by using cell cultures. The first study in male rats identified mainly an effect of TiO₂ particles on cell proliferation at digestive level, also observed on cell cultures. A recent article (12) with promising results revealed that a daily administration of E171, a ubiquitous food dye consisting of TiO₂ nanoparticles for 100 consecutive days in rats promotes alterations of immune responses, a colon low grade inflammation and initiates preneoplastic lesions while also fostering the growth of aberrant crypt foci in a chemically induced carcinogenesis model. In the second article, the authors characterized the ability of inhaled TiO₂ nanoparticles to induce a pulmonary inflammation and the appearance of pulmonary tumor markers. Such experimental data are highly significant and stress the need for further studies in order to better characterize health impacts of TiO₂ nanoparticles (13). Moreover, those results suggest that an inhalation or a daily ingestion of nanoparticles could be inducing or aggravating factors of cancer lesions in Humans. However, these results should be confirmed in rodent models before extrapolating to humans with greater reliability.

Lexique

Adénocarcinome : Tumeur maligne (cancéreuse) qui se développe à partir de cellules glandulaires ou plus exactement des cellules de recouvrement des glandes

Carcinogène (ou agent carcinogène) : qui engendre le cancer

E171 : Additif alimentaire utilisé communément dans l'agroalimentaire pour blanchir et opacifier des dentifrices, confiseries ou plats préparés

Homéostasie : Processus physiologique, permettant de maintenir certaines constantes du milieu intérieur de l'organisme (ensemble des liquides de l'organisme), nécessaires à son bon fonctionnement (entre les limites des valeurs normales)

Inflammation : réaction de défense immunitaire du corps à une agression externe (infection, trauma, brûlure, allergie...etc)

Insulin-like Growth Factors (IGF) : Facteurs de croissance dont la structure et le mode d'action ressemblent à ceux de l'insuline.

Tumorigénèse : Processus qui englobe toutes les étapes conduisant à la formation des tumeurs

Publications de référence

1 Park EJ, Lee GH, Shim HW, Kim JH, Cho MH, Kim DW. Comparison of toxicity of different nanorod-type TiO₂ polymorphs in vivo and in vitro. *J Appl Toxicol.* 2014 Apr; 34(4):357-66

2 Sycheva LP, Zhurkov VS, Lurchenko VV, Dauge-Dauge NO, Kovalenko MA, Krivtsova EK, Durnev AD. Investigation of genotoxic and cytotoxic effects of micro- and nanosized titanium dioxide in six organs of mice in vivo. *Mutat Res.* 2011 Nov 27;726(1):8-14.

3 Xie G, Wang C, Sun J, Zhong G. Tissue distribution and excretion of intravenously administered titanium dioxide nanoparticles. *Toxicol Lett.* 2011 Aug 10;205(1):55-61.

4 Afaq F, Abidi P, Matin R, Rahman Q. Cytotoxicity pro-oxidant effects and antioxidant depletion in rat lung alveolar macrophages exposed to ultrafine titanium dioxide. *J Appl Toxicol.* 1998;18:307-312.

5 Liu R, Yin LH, Pu YP, et al. Pulmonary toxicity induced by three forms of titanium dioxide nanoparticles via intra-tracheal instillation in rats. *Prog Nat Sci.* 2009;19:573-579.

6 Powell JJ, Faria N, Thomas-McKay E, Pele LC. Origin and fate of dietary nanoparticles and microparticles in the gastrointestinal tract. *J Autoimmun.* 2010 May; 34(3):J226-33.

7 Tassinari R, Cubadda F, Moracci G et al. Oral, short-term exposure to titanium dioxide nanoparticles in Sprague-Dawley rat: focus on reproductive and endocrine systems and spleen. *Nanotoxicology.* 2014 ;(8)654-62

8 Shukla RK, Kumar A, Pandey AK et al. Titanium dioxide nanoparticles induce oxidative stress-mediated apoptosis in human keratinocyte cells. *J Biomed Nanotechnol.* 2011 Feb;7(1):100-1.

9 Li B, Ze Y, Sun Q et al. Molecular mechanisms of nanosized titanium dioxide-induced pulmonary injury in mice. *PLoS One.* 2013;8(2):e55563.

10 Husain M, Saber AT, Guo C, Jacobsen NR, Jensen KA, Yauk CL, Williams A, Vogel U, Wallin H, Halappanavar S. Pulmonary instillation of low doses of titanium dioxide nanoparticles in mice leads to particle retention and gene expression changes in the absence of inflammation. *Toxicol Appl Pharmacol.* 2013 Jun 15;269(3):250-62.

11 Wallin H, Kyjovska ZO, Poulsen SS et al. Surface modification does not influence the genotoxic and inflammatory effects of TiO₂ nanoparticles after pulmonary exposure by instillation in mice. *Mutagenesis.* 2017 Jan;32(1):47-57.

Revue de la littérature

12 Bettini S, Boutet-Robinet E, Cartier C et al. Food-grade TiO₂ impairs intestinal and systemic immune homeostasis, initiates preneoplastic lesions and promotes aberrant crypt development in the rat colon. *Scientific Reports* 2017; 7:40373; doi: 10.1038

13 Zhang X, Li W, Yang Z. Toxicology of nanosized titanium dioxide: an update. *Arch Toxicol.* 2015 Dec;89(12):2207-17.

Liens d'intérêts :

Les auteurs déclarent n'avoir aucun lien d'intérêt.

anses

agence nationale de sécurité sanitaire
alimentation, environnement, travail



Connaître, évaluer, protéger

Bulletin de veille BVS scientifique

Édition scientifique • Bulletin de veille n° 33 • Avril 2018
Notes d'actualité scientifique

Agents chimiques

Perturbateurs endocriniens (expositions professionnelles et issues sur la grossesse et les nouveau-nés – présence au niveau urinaire et testostérone chez des adolescents)

Patrick THONNEAU | thonneaupatrick@yahoo.fr

Inserm - EA 3694 - Toulouse

Mots clés : Benzophénone-3, bisphénol A, durée de gestation, expositions professionnelles, parabène, poids de naissance, testostérone, triclosan

Depuis plusieurs décennies, un nombre croissant de publications internationales mettent en avant le rôle potentiellement délétère sur la santé humaine, en particulier sur les fonctions reproductrices, développementales, neurocomportementales et immunologiques, de composés chimiques considérés comme des perturbateurs endocriniens (PE) (1). Parmi les principaux composés chimiques synthétiques ou naturels suspectés d'agir en tant que PE, on trouve les hydrocarbonés aromatique polycycliques (HAP), les bisphénols poly-chlorés (PCB), des pesticides, les phtalates*, les solvants organiques, les phénols et en particulier le bisphénol A (BPA), le triclosan (TCS)* ainsi que la benzophénone-3 (BP-3)*, les composés alkyl phénols (APCs), les retardateurs de flamme bromés (BFRs), le parabène* (2-5). Les expositions à ces PE sont multiples, environnementales, alimentaires, professionnelles, ou encore via des usages cosmétiques et/ou pharmaceutiques. Les effets hormonaux de ces PE peuvent être de type anti-androgénique ou oestrogénique, voire combinant les deux effets. Dans le domaine des PE, plusieurs publications ont mis en évidence des fenêtres d'expositions particulièrement sensibles à ces produits, et en particulier les périodes embryonnaire, périnatale et pubertaire – les PE interférant alors, par leurs propriétés hormonales intrinsèques, avec les mécanismes de mise en place, de développement et de régulation des organes de la sphère reproductrice. Par ailleurs, ces mêmes expositions aux PE pourraient être particulièrement prononcées lorsqu'elles surviennent dans un cadre professionnel. Toutefois, si quelques publications ont montré l'impact de l'exposition professionnelle maternelle au PE sur le développement fœtal, le faible nombre de personnes enrôlées dans ces études n'a pas permis de dégager des conclusions générales (6, 7). Le premier article de cette note vise à évaluer les conséquences d'expositions professionnelles aux PE de femmes au cours de la grossesse, sur la durée de leur grossesse ainsi que le poids à la naissance de leur enfant, dans une étude portant sur plus de 100 000 mères (8). Depuis le début des années 2000, une large étude nord-américaine portant sur la santé et la nutrition (et en particulier sur les conséquences des PE), auprès d'un échantillon très important de la population américaine est menée par le Centre National des Statistiques Sanitaires (NCHS) et le CDC d'Atlanta ; cette étude inclut des questionnaires personnels, familiaux, professionnels, domestiques, environnementaux, ainsi que de nombreux prélèvements sanguins et urinaires. Les premiers résultats de cette étude NHANES 2011-2012 ont montré une large exposition au BPA, BP-3, TCS ainsi qu'au parabène de la population nord-américaine, y compris chez les jeunes enfants et les adolescents. Le second article de cette note analyse, au sein de cette étude NHANES (second volet), les dosages de testostérone chez les jeunes enfants et adolescents, en fonction de leurs expositions au BPA, BP-3, TCS et parabène (9).

Expositions professionnelles aux perturbateurs endocriniens et conséquence sur la durée de la grossesse et le poids à la naissance

Birks L. et al. (2016). Occupational Exposure to Endocrine-Disrupting Chemicals and Birth Weight and Length of Gestation: A European Meta-Analysis. *Environ Health Perspect.* Vol. 124(11): p.1785–1793.

Résumé

Cette étude a été menée auprès de 133 957 paires « mère-enfant », issues de treize cohortes européennes, de naissances survenues de 1994 à 2011. Dans ce travail, les auteurs ont mis en relation l'occupation professionnelle de

la mère avec une caractérisation de l'exposition en dix groupes de perturbateurs endocriniens (PE) potentiels, en utilisant une matrice emploi-exposition. Pour chaque groupe de PE, le niveau d'exposition professionnel a été catalogué en « possible » ou « probable », et ensuite comparé (méta-analyses) avec les issues de grossesse (durée de la grossesse, poids à la naissance), entre les groupes exposé aux PE et non-exposé aux PE. En se basant sur l'énoncé de la profession, 11% des femmes enceintes ont ainsi été classées comme ayant été exposées à des PE lors de leur grossesse, et ceci dans le cadre de leur activité professionnelle. Le fait pour une femme d'avoir été classée comme professionnellement exposée à un ou plusieurs groupes de PE au cours de la grossesse était significativement associé à une majoration du risque de

faible poids de naissance (OR=1.25 ; 95% 1.04 – 1.49) – ce risque de survenue d'un faible poids de naissance se majorant en cas d'expositions à plusieurs PE (ainsi OR=2.11 ; 95% 1.10 – 4.06 lors d'expositions à 4 et plus PE). Par ailleurs, les femmes ayant déclaré une profession considérée comme ayant entraîné une probable exposition au Bisphénol A ou aux retardateurs de flamme bromés, ont présenté une augmentation de la durée de leur grossesse (par rapport aux femmes du groupe non-exposé).

Commentaire

Cette étude, la plus importante à ce jour en termes d'inclusions (n=133 957) met en évidence l'importance de la période de la grossesse et donc des expositions aux PE survenues au cours de la période embryonnaire, une période particulièrement sensible sur le plan hormonal – le fait de retrouver une réduction du poids de naissance dans cette méta-analyse portant sur 13 études de cohortes est un élément majeur de robustesse quant aux conclusions des auteurs. De même, la prise en compte de facteurs maternels (parité*, pays d'origine, statut marital, niveau d'éducation, tabac, poids et taille maternels de départ) ne modifie aucunement les résultats, voire majore ceux-ci pour les femmes exposés au tabac et présentant un niveau moindre d'éducation. Finalement, le seul bémol important de cette étude tient au fait que la classification de l'exposition professionnelle maternelle s'est faite via une matrice emploi-exposition (Job Exposure Matrix en anglais), méthode qui consiste à associer l'emploi déclaré à une exposition (10). On ne peut non plus exclure que l'emploi déclaré par la femme enceinte de tel ou tel pays ne soit pas totalement synonyme de telle ou telle exposition, selon la codification du travail des pays européens concernés. De même, les législations européennes souvent différentes au moment de l'enquête et la durée d'éviction professionnelle des femmes enceintes a pu générer des erreurs de classifications, ou de sous ou surestimation de certaines expositions – certaines habitudes de vie et/ou alimentaires spécifiques à certaines sous-populations européennes peuvent également avoir contribué à des expositions concomitantes variables selon les sous-populations concernées. Enfin et malgré le nombre très important de femmes ayant participé dans cette étude, le nombre effectif de femmes professionnellement exposées au cours de leur grossesse, rapporté aux divers groupes de PE génère quelquefois des effectifs très réduits avec des conclusions difficiles à tirer, montrant ainsi les difficultés à mener ce type d'étude en milieu professionnel.

Concentrations en testostérone et niveaux de bisphénol A, benzophénone-3, triclosan, parabène, chez de jeunes enfants et adolescents

Scinicariello F. et al. (2016). Serum Testosterone Concentrations and Urinary Bisphenol A, Benzophenone-3, Triclosan, and Paraben Levels in Male and Female Children and Adolescents: NHANES 2011–2012. *Environ Health Perspect*, vol.124(12): p.1898–1904.

Résumé

En utilisant les données provenant de l'étude NHANES 2011-2012, les auteurs ont examiné (via des régressions linéaires multiples) les associations entre les teneurs urinaires (quartiles) en bisphénol A (BPA), benzophénone-3 (BP-3), triclosan (TCS) et parabènes, et les concentrations en testostérone total, chez des enfants (6 - 11 ans) et adolescents (12 - 19 ans). Les résultats mettent en avant une relation statistiquement significative entre la présence de bisphénol A et de benzophénone-3 (BP-3) et des taux plus faibles de testostérone chez les adolescents masculins. Toutefois, les auteurs notent, chez les adolescentes filles, une augmentation significative du taux de testostérone total en fonction d'une exposition croissante au bisphénol A (cette augmentation n'étant pas retrouvée chez les jeunes enfants de sexe féminin). Aucune association significative n'a été mise en évidence entre les taux de testostérone pour le triclosan et ou pour les parabènes.

Commentaire

Ces résultats intéressants mettent en avant une interaction possible entre BPA et testostérone chez de jeunes enfants et corroborent les résultats de plusieurs travaux antérieurs menés chez l'animal montrant également une relation entre BPA et un taux de testostérone abaissé chez des animaux mâles exposés (11, 12). Les résultats obtenus entre la teneur en benzophénone-3 (BP-3) et des taux plus faibles de testostérone chez des adolescents masculins sont les premiers publiés sur ce composé, excepté une publication de 2004 qui retrouvait ces mêmes résultats mais uniquement dans les premières heures de l'exposition (13). Plusieurs limites méthodologiques importantes doivent cependant être soulignées. D'une part, le fait de grouper des adolescents âgés de 12 à 19 ans revient à inclure et à réunir des adolescents pré et post-pubères, avec comme conséquences des profils hormonaux très différents selon que la puberté a été, ou non, réalisée. D'autre part, l'utilisation d'un seul prélèvement pour mesurer le taux de testostérone est générateur d'estimations erronées liées aux variations diurnes et nocturnes de cette hormone – de même, l'utilisation d'un seul prélèvement urinaire pour le dosage du BPA et des parabènes ne reflète pas adéquatement l'exposition à ces composés ayant des demi-vies courtes.

Enfin, comme le soulignent les auteurs, d'autres expositions chimiques environnementales, potentiellement anti-androgéniques, comme les phtalates, n'ont pas été considérés dans cette étude (14).

CONCLUSION GÉNÉRALE

Ces deux études menées sur les Perturbateurs Endocriniens (PE) mettent en avant, d'une part la possible contribution et ceci de manière importante, d'expositions professionnelles à ces PE lors de périodes charnières dans le développement et en particulier lors de la grossesse. Ainsi, dans la première étude, une réduction du poids des enfants à la naissance est notée chez des femmes professionnellement exposées aux PE, tout particulièrement en cas d'expositions péri-gravidique au Bisphénol A ou aux retardateurs de flamme bromés. D'autre part, la seconde étude menée sur un très large échantillon de la population nord-américaine montre quant à elle, une relation entre la présence de deux PE, bisphénol A et benzophénone-3, et des taux plus faibles de testostérone chez les adolescents garçons. Par ailleurs les auteurs notent, une augmentation des taux de testostérone total après expositions au bisphénol A chez les adolescentes filles.

Ces deux études apportent des contributions novatrices à une meilleure compréhension des modalités d'expositions aux PE, à la fois dans un cadre professionnel et dans des populations vulnérables.

GENERAL CONCLUSION

These two studies on Endocrine Disruptors (ED) highlight, on the one hand, the possible significant contribution of occupational exposures to these PE during key periods in human development, and especially during pregnancy. Thus, in the first study, a reduction in the weight of children at birth was observed in women who were professionally exposed to ED, especially in the case of Bisphenol A or brominated flame retardants peri-gravidic exposures. On the other hand, the second study conducted in a very large sample of the North American population shows a relationship between the presence of two ED, Bisphenol A and Benzophenone-3 (BP-3) and lower levels of testosterone in male adolescents, and a significant increase in female adolescents in case of Bisphenol A exposure.

Both of these studies contribute to a better and new understanding of exposure patterns in both professional settings and in vulnerable populations.

Lexique

Benzophénone : Molécule utilisée dans les encres et les vernis d'imprimerie, qui agit comme intermédiaire dans la synthèse de composés pharmaceutiques, agrochimiques et dans l'industrie des parfums (les benzophénones sont réglementées par le règlement cosmétique (CE) n°1223/2009

Parabène : Conservateur (antimicrobien et antifongique) essentiellement utilisé dans les cosmétiques et de façon plus marginale dans les médicaments et certains aliments comme additifs alimentaires.

Parité : Nombre d'enfants vivants (dans cette définition, est aussi comptabilisé le nombre de fois où une femme a accouché d'un bébé de plus de 500g ou de plus de 22 semaines d'aménorrhée).

Perturbateur endocrinien : Molécule qui mime, inhibe ou modifie l'action d'une hormone et perturbe le fonctionnement normal d'un organisme.

Phtalates : Composés chimiques ubiquitaires et essentiellement utilisés comme plastifiants, avec comme métabolites, le DEHP (diethylhexylphtalate), le MECPP (mono(2-ethyl-5-carboxypentyl)phtalate), le MEHHP (mono(2-ethyl-5-hydroxyhexyl)phtalate), le MEOHP (mono(2-ethyl-5-oxohexyl)phtalate).

Triclosan : Pesticide organochloré qui est largement utilisé depuis les années 1970, dans des centaines de produits, dont les produits de soins courants. Il possède des propriétés biocides (antifongique et antibactérien à large spectre) et est réglementé par le règlement cosmétique (CE) n°1223/2009.

Publications de référence

1 WHO/UNEP 2013. The state of the Science of Endocrine Disrupting Chemicals – 2012 (Bergman A, Heindel JJ, Jobling S, Kidd KA, Zo: update of experimental and human evidence, 2007-2013. ed. RT, eds). Geneva UNEP/WHO. <http://www.who.int/ceh/publications/endocrine/en/index.html> (accessed October 2016).

2 Perez J, Vrooman L, Ricke WA, Hunt PA et al. Bisphenol A and reproductive health: update of experimental evidence, 2007-2013. Environ Health Perspect 2014 122:775-786.

3 Calafat AM, Ye X, Wong LY, Bishop AM, Needham LL. Urinary concentrations of four parabens in the US population: NAHES 2005-2006. Environ Health Perspect 2010 118:679-685.

4 Gee RH, Charles A, Taylor N, Darbre PD. Estrogenic and androgenic activity of triclosan in breast cancer cells. J Appl Toxicol 2008 28(1):78-91.

5 Krause M, Klit A, Jensen M, Sorborg T et al. Sunscreens: are they beneficial for health? An overview of endocrine disrupting properties of UV-filters. Int J Androl 2012 35(3): 424-436.

6 Govarts E, Nieuwenhuijsen M, Schoeters G, et al. Birth weight and prenatal exposure to polychlorinated biphenyls (PCBs) and dichlorodiphenyl-dichloroethylene (DDE): a meta-analysis within 12 European birth cohorts. Environ Health Perspect 2012 120:162-170.

7 Snidjer CA, Roeleveld N, Te Velde E, et al. Occupational exposure to chemicals and fetal growth: the Generation R Study. Hum Reprod 2012 27:910-920.

8 Birks L, Casas M, Garcia AM, et al. Occupational Exposure to Endocrine-Disrupting Chemicals and Birth Weight and

Length of Gestation: A European Meta-Analysis. *Environ Health Perspect.* 2016 Nov; 124(11): 1785–1793.

9 Scinicariello F, Buser MC. Serum Testosterone Concentrations and Urinary Bisphenol A, Benzophenone-3, Triclosan, and Paraben Levels in Male and Female Children and Adolescents: NHANES 2011–2012. *Environ Health Perspect.* 2016 Dec; 124(12): 1898–1904.

10 Van Tongeren M, Nieuwenhuijsen MJ, Gardiner K, et al. A job-exposure matrix for potential endocrine-disrupting chemicals developed for a study into the ascition between maternal occupational exposure and hypospadias. *Ann Occup Hyg* 2002 46:465-477.

11 Chen F, Zhou L, Bai Y, et al. Sex differences in the abduct HPA axis and affective behaviors are altered by perinatal exposure to a low dose of bisphenol A. *Toxicol Sci* 2014; 139(1):198-209 Res 2014 1571:

12 Fernandez M, Bourguignon N, Lux-Lantos V, et al. Neonatal exposure to bisphenol A and reproductive and endocrine alterations resembling the polycystic ovarian syndrome in adults rats. *Environ Health Perspect.* 2010 118:103-1608.

13 Janjua NR, Mogensen B, Anderson AM, et al. Systematic absorption of the sunscreens benzophenone-3, octyl-methoxycinnamate, and 3-(4methyl-benzylidene) camphor after whole-body topical application and reproductive hormone levels in humans. *J Invest Dermatol* 2004 123:57-61.

14 Meeker JD, Ferguson KK. Urinary phtalates metabolites are associated with decreased serum testosterone in men, women, and children from NAHNES 2011-2012. *J Clin Endocrinol Metab* 2014 99:4346-4352.

Liens d'intérêts :

Les auteurs déclarent n'avoir aucun lien d'intérêt.

Impact de composés perfluorés sur le développement de stéatoses hépatiques

Laila MSELLI-LAKHAL | laila.lakhal@inra.fr

Inra - UMR 1331 - Toulouse

Mots clés : Composés perfluorés, perturbation métabolique, stéatose

L'obésité et les maladies métaboliques associées sont dues à des dysfonctionnements du système endocrinien et potentiellement sensibles aux produits chimiques de type perturbateurs endocriniens (Thayer et al, Environ Health Persp, 2012). Parmi elles, les stéatoses hépatiques non alcooliques ou NAFLD (*Non-alcoholic fatty liver disease*) représentent un ensemble de désordres hépatiques allant de la simple accumulation de graisse dans le foie, à une inflammation en présence ou non de fibrose dite stéatohépatite non alcoolique ou NASH (*Non Alcoholic Steato-Hepatitis*). Les causes premières de ces pathologies sont un déséquilibre lié à une alimentation riche et une vie sédentaire. Mais de nombreuses données scientifiques, à la fois épidémiologiques et expérimentales, montrent un rôle des substances chimiques, en particulier celles du type perturbateur endocrinien* dans le développement de stéatose ou leur évolution vers des formes plus sévères. Le terme TAFLD (Toxicant-associated fatty liver disease) a été récemment créé pour décrire les maladies hépatiques non alcooliques dues à l'exposition à des polluants environnementaux (1). Parmi ces polluants on retrouve les composés perfluorés qui sont utilisés depuis plus de 50 ans dans une grande variété de produits domestiques et industriels. Les deux articles sélectionnés dans cette note montrent un effet stéatogène de composés perfluorés comme le PFOA, le PFNA, le PFHxS ou encore le PFOS. La première étude utilise la souris comme modèle et la deuxième le poisson zèbre.

Stéatose hépatique induite par les acides perfluoroalkyliques : effets sur les gènes contrôlant l'homéostasie lipidique

Das KP. et al. (2017). Perfluoroalkyl acids-induced liver steatosis: effects on genes controlling lipid homeostasis. *Toxicology*, vol.(378): p.37-52.

Résumé

Des études réalisées chez le rongeur ont montré que les composés perfluorés sont de puissants modificateurs du métabolisme lipidique et provoquent des stéatoses hépatiques. Cependant les mécanismes en jeu restent à élucider. Certaines études suggèrent qu'ils interfèrent avec la β -oxydation mitochondriale des acides gras, d'autres qu'ils activent le récepteur PPAR α qui joue un rôle important dans la régulation du métabolisme lipidique hépatique. L'objectif de cette étude est d'évaluer différents composés perfluorés comme l'acide perfluorooctanoïque (PFOA), l'acide perfluorononanoïque (PFNA) ou le Perfluorohexane sulfonate (PFHxS) par rapport à leur capacité à induire des stéatoses chez la souris. Pour étudier l'implication du récepteur nucléaire PPAR α dans ces effets, ces composés ont été administrés par gavage pendant sept jours de souris de type sauvage (WT) ou invalidées pour ce récepteur nucléaire. Les effets obtenus ont été comparés à ceux du WY-14643 (WY), agoniste pharmacologique du récepteur PPAR α . Les résultats obtenus montrent que le PFOA, le PFNA et le PFHxS provoquent des augmentations du poids du foie et de la taille des cellules hépatiques ainsi qu'une diminution de la teneur en ADN par mg de foie par un mécanisme indépendant de PPAR α . Ces composés

induisent également une stéatose hépatique attestée par des colorations à l'« Oil Red O » de coupes de foie et le dosage de triglycérides. Les souris PARR α -/- présentent une charge en lipides hépatiques plus importante que les sauvages mais le traitement par les composés perfluorés entraîne une augmentation de cette charge lipidique. Des essais visant à évaluer l'effet de composés perfluorés sur la β -oxydation mitochondriale des acides gras n'ont permis de mettre en évidence aucun effet d'inhibition. Par l'analyse de résultats de puces à ADN les auteurs de cette étude montrent que le traitement par des composés perfluorés entraîne une induction d'expression des gènes de catabolisme lipidique, ainsi que ceux impliqués dans la synthèse d'acides gras et de triglycérides, chez les souris WT et, dans une moindre mesure, dans les souris PPAR α -/-. Les auteurs font l'hypothèse d'une rupture de l'équilibre synthèse/dégradation des lipides par les composés perfluorés pour expliquer l'accumulation de lipides qu'ils induisent au niveau hépatique.

Commentaire

Cet article est particulièrement intéressant du fait d'une étude complète visant à mieux comprendre les mécanismes par lesquels les composés perfluorés entraînent des stéatoses hépatiques. Les auteurs ont étudié plusieurs composés le PFOA, le PFNA et le PFHxS. Ils montrent que ces trois composés, administrés par gavage quotidien de 10 mg/kg pendant 7 jours, provoquent tous les mêmes effets au niveau hépatique : augmentation du poids du foie et de son contenu en lipide dont les triglycérides. D'autres articles avaient précédemment montré un effet de composés

perfluorés sur le métabolisme lipidique hépatique. Cependant ces études ont porté principalement sur le PFOA en association ou pas avec des régimes gras (2). L'autre intérêt de cette étude est d'apporter des données à la fois sur l'accumulation de lipides au niveau hépatique et sur l'expression des gènes associés. L'analyse d'expression de gènes montre une induction simultanée de la synthèse des acides gras par le processus de lipogénèse et de leur dégradation par la β -oxydation des acides gras. L'utilisation de souris invalidées pour le récepteur nucléaire PPAR α (PPAR α -/-) permet d'apporter des données mécanistiques. L'étude montre que la plupart des effets observés sont indépendants du récepteur nucléaire PPAR α puisqu'ils sont retrouvés chez les souris PPAR α -/-. La stéatose induite par les composés perfluorés résultent donc probablement de l'activation par ces composés de plusieurs facteurs de transcription comme CAR, PXR et LXR (3). Il faut noter que cette étude mélange différents modèles ce qui complique la formulation de conclusions générales : souris SV129, rats Sprague-Dawley et cellules humaines HepG2.

L'exposition chronique à l'acide perfluorooctanesulfonique perturbe le métabolisme lipidique du poisson zèbre.

Cui Y. et al. (2017). Chronic perfluorooctanesulfonic acid exposure disrupts lipid metabolism in zebrafish. *Hum Exp Toxicol*, vol. (36): p.207-217.

Résumé

Dans cette étude les auteurs ont voulu évaluer les effets d'exposition à l'acide perfluorooctanesulfonique (PFOS) sur le métabolisme lipidique, plus particulièrement chez les organismes aquatiques. Pour cela ils ont évalué les conséquences d'une exposition chronique à une faible dose de PFOS sur des poissons zèbres mâles et femelles et sur leur descendance F1. Les résultats montrent une plus grande sensibilité des mâles par rapport aux femelles. Chez ces derniers le traitement avec 0,5 μ M de PFOS provoque des changements au niveau hépatique se traduisant par une stéatose, des anomalies structurales au niveau des mitochondries et du réticulum endoplasmique. Au niveau intestinal ces mâles présentent également des changements structuraux importants. Par ailleurs les taux plasmatiques de triglycérides et de cholestérol sont diminués. Chez la descendance F1 d'animaux exposés à 0,5 μ M de PFOS, des analyses par QPCR sur les gènes impliqués dans le métabolisme lipidique ont été réalisés. Ils montrent une induction d'expression de gènes impliqués dans la signalisation de l'insuline comme *insr* (récepteur de l'insuline), d'hormone digestives comme *lepa* (leptine α), de neuropeptides comme *kiss1* (kisspeptins), ou encore du stress oxydant comme *xhd* (xanthine déshydrogénases). Ils ont également mis en évidence une diminution d'expression de gènes codant pour la synthèse des triglycérides comme *dgat1b* (diacylglycérol O-acyltransférase), de facteurs de transcription comme *hb9* (motoneurone / pancréas homeobox) et de protéine entrant dans la composition du HDL-cholestérol comme *Apoa1* (apolipoprotéine AI). L'ensemble des résultats montre qu'une exposition

chronique au PFOS perturbe le métabolisme lipidique chez les poissons zèbres F0 et leur descendance F1.

Commentaire

Dans ce deuxième article les effets des composés perfluorés et plus particulièrement du PFOS sur le métabolisme lipidique sont évalués chez le poisson zèbre. Le modèle d'étude utilisé est le poisson zèbre qui constitue un organisme modèle d'étude des maladies humaines du fait de son génome qui est très proche de celui de l'humain. Ce modèle permet de réaliser une exposition longue de 180 jours à des doses faibles (ici 0, 0,02, 0,1 et 0,5 μ M), mimant celles retrouvées dans l'environnement. L'avantage de cette étude est d'intégrer à la fois les mâles et les femelles, les parents et leurs descendants. Les effets observés sont généralement significatifs pour une exposition de 0,5 μ M. Cette étude montre que l'exposition au PFOS conduit, comme pour ses autres congénères, au développement d'une stéatose hépatique et à d'autres désorganisations tissulaires aussi bien au niveau hépatique que gastro-intestinal. Elle souligne une plus grande sensibilité des mâles à ces effets. Les auteurs expliquent cette différence par une probable différence dans la métabolisation et le stockage du composé par les deux genres. Les effets sur la descendance F1 ne sont étudiés qu'à travers l'expression de gènes impliqués dans le métabolisme lipidique, qui n'est appuyée par aucune donnée histologique hépatique. Certaines régulations géniques sont mêmes parfois contre-intuitives par rapport aux maladies métaboliques (sans réelle discussion des auteurs). Néanmoins, ces modulations d'expression de gènes suggèrent un effet transgénérationnel du PFOS. Elles mettent également en lumière le rôle potentiel du stress oxydant dans les effets du polluant. Par ailleurs, après une exposition à 0,5 μ M des parents, une différence de sexe ratio (plus de femelles), des difformités et une survie réduite sont observées chez la descendance. Ces résultats sont cohérents avec une autre étude parue dans la même période (4) montrant qu'une exposition d'embryons de poissons zèbre au PFOS entraîne une accumulation de lipides dans le foie. Dans cette dernière étude des analyses transcriptomiques plus poussées montrent une dérégulation de gènes impliqués dans de nombreuses voies métaboliques hépatiques confirmant un effet mécanisme d'action complexe des composés perfluorés dans l'induction de pathologies hépatiques (4). Ces articles montrent également l'intérêt du modèle de poissons zèbres dans les études de toxicologie.

CONCLUSION GÉNÉRALE

Les deux études présentées dans cette note portent sur l'effet stéatogène des composés perfluorés dans deux modèles animaux : souris et poisson zèbres. Ces composés sont des polluants organiques persistants retrouvés dans tous les compartiments de l'environnement (air, eau, sol...) et dans la chaîne alimentaire. Leur toxicité pose question, certains d'entre eux étant notamment suspectés d'avoir des effets de perturbateurs endocriniens. Ils présentent une similarité importante avec les acides gras et on les suspecte d'induire une perturbation endocrinienne en activant le récepteur nucléaire PPAR α . Les études présentées dans cette note illustrent cet effet à travers la démonstration d'une interférence de plusieurs congénères de cette famille avec le métabolisme lipidique hépatique. L'exposition à ces composés pourrait donc contribuer au développement de pathologies hépatiques de type stéatoses ou stéatohépatites dont l'incidence a doublé au cours des 20 dernières années et pour lesquelles il n'existe aucun traitement à l'heure actuelle autre que le contrôle des facteurs de risque. Les articles présentés dans cette note montrent que les mécanismes en jeu dans l'induction de ces pathologies hépatiques sont complexes et ne se résument pas à l'interaction avec le récepteur nucléaire PPAR α . Le deuxième article montre que ces pathologies se manifestent même à de faibles doses d'une exposition chronique de six mois et suggère une plus grande sensibilité des mâles par rapport aux femelles, ainsi que des effets intergénérationnels.

GENERAL CONCLUSION

The two studies presented in this note deal with the steatogenic effect of perfluorinated compounds in two animal models: the mice and the zebrafish. These compounds are found in all compartments of the environment (Air, water, soil...) and in the food chain; their toxicity raises questions, some of them being suspected of having endocrine disrupter effects. They have a high similarity with the fatty acids and are suspected to induce endocrine disruption by activating PPAR α nuclear receptor. The studies presented in this note illustrate this effect through the demonstration of interference of several congeners of this family with hepatic lipid metabolism. This interference may contribute to liver diseases such as steatosis or steatohepatitis, the incidence of which has doubled over the last 20 years and for which there is no treatment at present other than control of risk factors. The articles presented in this note show that the mechanisms involved in the induction of these hepatic pathologies are complex and are not limited to the interaction of PPAR α nuclear receptor. The second article shows that these pathologies manifest themselves even at 6 months chronic exposure to low doses and suggest a greater sensitivity of males compared to females, as well as intergenerational effects.

Lexique

Apoa1 : Apolipoprotéine AI, composante majeure du HDL dans le plasma, joue un rôle important dans le transport du cholestérol des tissus périphériques vers le foie.

CAR : Constitutive Androstane Receptor, récepteur aux xénobiotique régulant la fonction de détoxification et également impliqué dans le métabolisme énergétique.

Dgat1b : Diacylglycérol O-acyltransférase-1b, enzyme impliqué dans la synthèse des triglycérides.

Hb9 : Motoneurone / pancréas homeobox, facteur de transcription jouant un rôle dans la différenciation des motoneurones et le développement du pancréas.

INSR : Récepteur à l'insuline, impliqué dans la voie de signalisation à l'insuline.

Kiss1 : Kisspeptine, neuropeptide se liant au récepteur couplé aux protéines G GPR54.

Lepa : leptine α , hormone digestive contrôlant la sensation de satiété.

LXR : Liver X Receptor, récepteur nucléaire régulant le métabolisme lipidique.

PPAR α : Peroxysome Proliferator-Activated Receptor alpha, récepteur nucléaire régulant le métabolisme lipidique.

PXR : Pregnane X Receptor, récepteur aux xénobiotique régulant la fonction de détoxification et également impliqué dans le métabolisme énergétique.

Xdh : Xanthine déshydrogénases, complexe enzymatique existant sous des formes interconvertibles. La forme oxydase génère des espèces réactives d'oxygène, qui joue

un rôle important dans la pathogenèse de la stéatose hépatique et du diabète de type I et II.

Publications de référence

1 Wahlang B, Beier JL, Clair HB, Bellis-Jones HJ, Falkner KC, McClain CJ, Cave MC. Toxicant-associated steatohepatitis. *Toxicol Pathol* 2013 ;41 (2):343-60.

2 Tan X, Xie G, Sun X, Li Q, Zhong W, Qiao P, Sun X, Jia W, Zhou Z. High fat diet feeding exaggerates perfluorooctanoic acid-induced liver-injury in mice via modulating multiple pathways. *Ploce One*, 2013, vol.8 (4)

3 Bjork JA, Butenhoff JL, Wallace KB. Multiplicity of nuclear receptor activation by PFOA and PFOS in primary human and rodent hepatocytes. *Toxicology* 2011, vol. 288 (1-3):p.8-17.

4 Fai Tse WK, Li JW, Kwan Tse AC, Chan TF, Hin Ho JC, Sun Wu RS, Chu Wong CK, Lai KP. Fatty liver disease induced by perfluorooctane sulfonate: Novel insight from transcriptome analysis. *Chemosphere* 2016 vol.159: p166-77.

Revue de la littérature

Li K, Gao P, Xiang P, et al. Molecular mechanisms of PFOA-induced toxicity in animals and humans : Implication for health risks. *Environ Int.* 2017, vol.99:p ;43-54.

Liens d'intérêts :

Les auteurs déclarent n'avoir aucun lien d'intérêt.

Nouvelle méthode globale d'évaluation de l'exposition aux pesticides par l'échantillonnage et l'analyse des eaux usées

Jean-Christophe GARRIGUES | jean-christophe.garrigues@chimie.ups-tlse.fr

CNRS - Laboratoire IMRCP, UMR5623 - Toulouse

Mots clés : Biomarqueurs, Pesticides, eaux usées, épidémiologie, exposition

La population mondiale est exposée aux pesticides par l'alimentation, l'utilisation domestique, l'usage professionnel ou par une exposition environnementale dans les zones de cultures. Les effets de cette exposition sur la santé sont nombreux. En 2008, Barr a montré un lien entre l'analyse du taux d'agents chimiques ou de leurs métabolites, dosés dans différents tissus ou fluides biologiques et des effets sur la santé (1). Ces études permettent de suivre non pas l'agent chimique parent, mais ses produits de dégradation (métabolites), qui se retrouvent dans plusieurs fluides biologiques comme le sang, le plasma ou l'urine. En 2003 Wessels et coll. ont montré (2) l'intérêt des analyses de métabolites de pesticides dans les urines pour évaluer l'exposition humaine. On y retrouve ces métabolites en concentration plus élevée que dans les autres fluides et ces prélèvements non invasifs sont simples à mettre en œuvre. La relation entre les taux de métabolites dans les urines et l'exposition a été évaluée par des études successives menées sur plusieurs échantillons de population : personnes non exposées directement, agriculteurs, ouvriers. Une des limitations de cette méthodologie individuelle, est la taille de l'échantillon nécessaire pour que les prélèvements soient représentatifs d'une population exposée, en minimisant les différences de métabolismes individuels. Les deux publications sélectionnées dans cette note montrent les avancées obtenues dans le domaine de l'évaluation de l'exposition aux pesticides, utilisant la méthodologie de suivi des métabolites, non pas dans les urines individuelles, mais dans les eaux usées. La première publication de cette note montre la méthodologie analytique développée par Rousis et al. (2016). Une préparation d'échantillons SPE* permet de concentrer les métabolites les plus hydrophobes, avant de les analyser sur un système LC-MS/MS*. Cette méthode permet de déterminer les taux de métabolites retrouvés dans les eaux usées et la fréquence d'apparition. La seconde publication des mêmes auteurs (2017) montre la méthodologie développée pour évaluer l'exposition d'une population aux pyréthroides* à partir des taux de métabolites retrouvés dans les eaux usées. Cette méthodologie a permis aux auteurs de réaliser la première étude épidémiologique par le suivi du taux de métabolites de pesticides dans les eaux usées urbaines en Italie.

Mesure de l'exposition aux pesticides d'une population, par la quantification de leurs métabolites urinaires dans les eaux usées urbaines par chromatographie liquide couplée à la spectrométrie de masse en tandem : une nouvelle approche de bio-surveillance

Rousis NI. et al. (2016). Monitoring population exposure to pesticides based on liquid chromatography-tandem mass spectrometry measurement of their urinary metabolites in urban wastewater: A novel biomonitoring approach, *Sci Total Environ*; vol.(571):p.1349-1357.

Résumé

L'étude montre la première application analytique permettant de quantifier des métabolites urinaires de pesticides dans les eaux usées issues de station d'épuration. Les auteurs ont sélectionné trois classes de pesticides : les triazines*, les organo-phosphorés* et les pyréthroides. Ces trois familles de pesticides ont été étudiées par Yusa et coll. en 2015 (3), avec l'identification des principales voies de métabolisation et de dégradation environnementale ainsi

que la stabilité des métabolites dans les urines. A partir de ces données bibliographiques, les auteurs ont retenu 14 métabolites stables et produits uniquement par le métabolisme humain ou pour certains, produit également par l'environnement, mais étant représentatifs de l'exposition humaine. Pour les triazines c'est l'atrazine (ATZ) et cinq de ses métabolites, qui ont été retenus : déséthyl atrazine (DEA), déséthyl tributyl atrazine (DES), désisopropyl atrazine (DIA), diamino chloro atrazine (DACT), atrazine mercapturate (AM). Pour les pyréthroides (PYR), l'acide 3-phenoxybenzoïque (3-PBA) a été retenu car il est le métabolite majoritaire issu de 20 molécules de synthèses différentes. Un autre métabolite est également recherché le dichlorovinyl diméthyl cyclopropane acide carboxylique (cis et trans DCCA), caractéristique de l'exposition à la perméthrine*, cyperméthrine* et cyfluthrine*. Pour les insecticides organophosphorés (OP), les métabolites du chlorpyrifos (CPF), chlorpyrifos méthyl (CPF-MET) et malathion (MAT) sont recherchés : trichloro pyridinol (TCPY), malathion acide monocarboxylique (MMA), malathion acide dicarboxylique (MDA), isopropyl méthyl pyrimidol (IMPY), diéthyl phosphatate (DEP), diéthyl thiophosphatate (DETP), diméthyl phosphatate (DMP), diméthyl thiophosphatate (DMTP). La prise d'échantillons a été réalisée

dans les stations d'épuration de sept villes en Italie. L'eau brute est collectée en entrée de station. Pour chaque analyse, 600 mL d'eau sont prélevés et congelés. Chaque échantillon est filtré avant extraction sur phase solide (SPE). Pour chaque extraction, 50 mL d'eau est nécessaire et après évaporation du solvant d'extraction, 100 µL d'eau ultra pure et des standards isotopiques* de chaque métabolite sont ajoutés avant injection dans un système LC-MS/MS. Pour les métabolites les plus polaires (DEP, DETP, DMP et DMTP), non retenus par les cartouches de SPE, une injection directe est réalisée. Le système développé permet d'atteindre des limites de quantifications (LOQ) comprises entre 5 et 15 ng/L pour la majorité des métabolites. Pour les métabolites des OP (DEP, DETP, DMP et DMTP) détectés par injection directe, les LOQ sont comprises entre 0.06 et 0.79 µg/L. L'étude de stabilité a montré que la majorité des métabolites sont stables après deux mois de présence dans des eaux usées stockées à -20°C, à l'exception de DCCA totalement dégradé et deux métabolites de l'atrazine AM et DIA dont les taux augmentent de 34% et 24%. La méthode a été appliquée à l'étude de 44 échantillons d'eaux usées prélevées en mai 2014. Les résultats ont montré l'absence de détection pour CPF-MET, AM et DMTP. Les métabolites les plus détectés sont DES, TCPY, 3-PBA, DMP et DEP, retrouvés dans tous les échantillons. Le trans DCCA est retrouvé dans 97% des échantillons, le cis DCCA 73%, IMPY 77 et ATZ 57%. Tous ces métabolites sont retrouvés avec des concentrations comprises entre 1 ng/L et 1.6 µg/L. Les plus fortes concentrations en métabolites sont observées pour DMP, DEP et DETP.

Commentaire

L'étude montre la présence de fortes concentrations en métabolites d'OP, comme montré par Heudorf et coll. en 2001, dans des prélèvements d'urines individuels (4). Dans cette précédente étude DMTP est retrouvé à forte concentration, mais non détecté ici. DMP et DEP sont deux des six métabolites les plus fréquemment retrouvés dans la littérature, comme dans les résultats de cette publication. Dans ce travail, les auteurs se sont intéressés à des métabolites plus spécifiques de CPF et CPF-MET. TCPY est retrouvé dans tous les échantillons à une concentration comprise entre 12 et 280 ng/L, comme présenté dans les travaux de Barr et coll. (1). La même remarque peut être faite pour IMPY. Pour MMA, la fréquence de détection est faible montrant une faible exposition au MAT. Pour les PYR, 3-PBA est retrouvé dans tous les échantillons, montrant une forte exposition, en accord avec les travaux de Heudorf (4) et Barr (1). Dans ces précédents travaux, la fréquence de détection approchait 90% et la concentration >180 ng/L montrait une forte exposition aux PYR. Pour les métabolites de ATZ, interdite dans l'Union européenne depuis 2004, les métabolites ne sont retrouvés que sporadiquement à l'état de trace, excepté pour DES qui est retrouvé dans tous les échantillons de cette étude à une concentration élevée (20 ng/L). Ces résultats sont en accord avec l'étude de Meffe et coll. (5) montrant l'ubiquité de ce métabolite dans les eaux de surface. En revanche ces résultats confirment que ce métabolite n'est pas exclusivement apporté par le métabolisme humain d'ATZ et que d'autres voies de dégradation du pesticide existent dans l'environnement.

Cette méthodologie analytique est une avancée dans le domaine. Elle permet le suivi d'une population de plusieurs milliers de personnes à partir d'un seul prélèvement. Il convient de réaliser des études complémentaires, notamment sur la stabilité des métabolites et sur les éventuelles autres sources environnementales qui peuvent interférer dans la mesure de l'exposition, afin de confirmer le choix des biomarqueurs spécifiques des pesticides parents. La méthode est globale et peut être étendue à de nombreux agents chimiques.

Epidémiologie de l'exposition humaine aux pesticides pyréthroides par l'étude des eaux usées.

Rousis NI. et al. (2017). Wastewater-based epidemiology to assess human exposure to pyrethroid pesticides. *Environ Int*, vol.(99): p.213-220.

Résumé

Le suivi de l'exposition aux pesticides est généralement assuré par des études épidémiologiques qui recherchent différents biomarqueurs* de ce contact dans la population. L'exposition est évaluée par la mesure des métabolites spécifiques des pesticides tracés dans les fluides (urine, sérum ...) des personnes suivies, regroupées dans des cohortes importantes (6). Le travail de collecte et d'analyse de ce très grand nombre d'échantillons individuels est très important et constitue une limite aux études épidémiologiques individuelles (7). Les auteurs ont donc choisi d'appliquer une nouvelle méthodologie permettant de quantifier des métabolites urinaires de pesticides dans les eaux usées issues de station d'épuration dans une étude épidémiologique à l'échelle d'un pays. La méthodologie analytique est présentée dans la première publication de cette note. Le principe retenu pour l'appliquer à une étude épidémiologique est que tout pesticide en contact avec un individu va être métabolisé et rejeté par les urines. Le taux de métabolites retrouvé dans les eaux est relié par un facteur de correction (CF) mesuré à partir du ratio de la masse molaire (Mw) du pesticide étudié par Mw du métabolite spécifique sur la masse moyenne de métabolite rejetée dans les eaux usées (Wm). L'objectif de cette étude est de montrer que la méthode de dosage des métabolites dans les eaux usées est adaptée à la mesure de l'exposition globale d'une population à une classe de pesticides : les pyréthroides. Pour ce faire deux métabolites ont été recherchés : l'acide 3-Phenoxybenzoïque (3-PBA) et le dichlorovinyl diméthyl cyclopropane acide carboxylique (cis et trans DCCA). Ces métabolites ont été retenus de par leurs fréquences de détection et leurs concentrations élevées dans les urines de prélèvements individuels (4). Les prélèvements ont été effectués dans 6 villes en Italie en mai 2014. Pour une ville des prélèvements complémentaires ont été effectués de février à septembre 2015, afin d'évaluer l'exposition saisonnière. La concentration en métabolite (Cm) est mesurée sur un système LC-MS/MS. La masse moyenne de métabolites rejetés Wm est calculée en multipliant Cm par le débit d'eau usée de chaque station. La charge journalière est alors normalisée par le nombre d'habitant de chaque ville pour permettre une étude

comparative (mg/jour/1000 habitants). A partir de ces données (WIm et CF) le taux d'exposition aux pyréthrinés est calculé pour chaque population. La charge journalière la plus élevée (en mg/jour/1000 habitants) est mesurée à 130.6 pour le 3-PBA, 160.2 pour le trans DCCA et 61.6 pour le cis DCCA. À partir des résultats obtenus avec le 3-PBA, l'exposition aux pyréthroïdes est calculée à un taux de 907.5 mg/jour/1000 habitants pour la plus forte exposition. Pour la majorité des villes, l'exposition est plus faible, de l'ordre de 260 mg/jour/1000 habitants. À partir du cis et trans DCCA, l'exposition ciblée à la perméthrine, cyperméthrine et cyfluthrine est évaluée. Les valeurs varient de 29 à 588 mg/jour/1000 habitants.

Commentaire

L'étude montre la possibilité d'évaluer l'exposition aux pesticides pyréthroïdes à partir de la mesure des taux de métabolites retrouvés dans les eaux usées des stations d'épuration. Les biomarqueurs retenus sont spécifiques d'une famille de 20 pyréthroïdes (3-BPA) ou de trois molécules spécifiques (cis et trans DCCA). Les concentrations retrouvées dans les eaux usées pour ces trois métabolites sont en accord avec les valeurs individuelles de la littérature (3). Pour les PYR, les auteurs ont déterminé l'exposition moyenne journalière et l'ont comparée à la dose journalière admissible (DJA) de la cyfluthrine (0.03 mg/jour/kg). Les résultats montrent que l'exposition aux PYR a représenté entre 13 et 439% de la DJA sur la période mesurée. La méthode développée par les auteurs pour évaluer l'exposition utilise un CF qui doit être affiné en fonction des données de la littérature correspondant aux différentes voies d'exposition. En effet, Morgan et col. (8) ont montré que les voies d'exposition sont représentées par l'alimentation avec notamment la quantité de végétaux consommés et l'exposition indirecte par la peau et l'inhalation de pesticides à usage agricole, vétérinaire ou domestique. Les auteurs utilisent toutes les données bibliographiques disponibles pour améliorer ces CF, mais les résultats sont encore trop limités en nombre de personnes évaluées. L'étude menée par Garcia Lorca et al. (9) a montré la variabilité observée dans la mesure de l'exposition en fonction de paramètres environnementaux et individuels et souligne l'importance de mener des études globales sur ces facteurs. Des études complémentaires sont à envisager pour affiner ces CF. De même la présence de métabolites de ces pesticides dans l'alimentation n'est pas systématiquement recherchée et ces métabolites peuvent provenir de l'exposition et/ou de l'environnement. La recherche de métabolites stables uniquement métabolisés suite à une exposition humaine ou animale est une démarche à initier dans les contrôles qualités en lien avec l'alimentation. Cette méthodologie épidémiologique est une avancée dans le domaine. Elle est globale, spécifique ou à large spectre suivant les métabolites recherchés et permet des mesures de variation spatiales et temporelles et permet de mesurer un risque pour la santé par la comparaison des doses moyennes d'expositions avec la DJA réglementaire.

CONCLUSION GÉNÉRALE

Les auteurs ont développé une méthodologie analytique permettant la recherche de métabolites de pesticides dans les urines prélevées dans les eaux usées de stations d'épuration. L'étude a montré la stabilité de beaucoup de ces métabolites dans ces rejets. Plusieurs classes de pesticides ont été suivies à partir d'un seul prélèvement : OP, ATZ, PYR. Dans la seconde publication analysée, les auteurs ont montré l'application de cette méthodologie à une étude épidémiologique à l'échelle d'un pays : l'Italie. Cette étude montre une forte exposition de la population aux OP. Cette exposition est relevée par la présence de DMP et DEP dans tous les échantillons d'eaux usées. ATZ, interdite dans l'union Européenne depuis 2004 est retrouvée dans plus de la moitié des échantillons. En revanche pour ses métabolites, DES est retrouvé dans tous les échantillons alors que les autres métabolites sont retrouvés sporadiquement et en quantité très faible. Un point important des résultats de ces deux études concerne la mesure de l'exposition aux pyréthroïdes. L'utilisation de cette classe d'insecticide est en constante augmentation et représente aujourd'hui la plus importante source de pollution en agriculture et usage domestiques (10). Avec cette méthode, les auteurs ont également évalué un risque pour la santé en comparant les doses d'exposition aux DJA. Cette approche globale permet d'apporter une réponse aux recommandations de l'Anses concernant le développement de méthodes d'évaluation de l'exposition intégrée, prenant en compte toutes les sources et les voies de contamination (11).

GENERAL CONCLUSION

The authors developed an analytical methodology for the monitoring of pesticides metabolites collected in urban wastewater. This study showed the stability of many of these metabolites in raw wastewater. Several classes of pesticides were followed with only one sample: OP, ATZ, PYR. In the second analyzed publication, the authors showed the application of this methodology to an epidemiological country scale study in Italy. This study shows a high level of exposure for the population to OP. This exposure is raised by the presence of DMP and DEP in all the wastewater samples. ATZ, prohibited in the European Union since 2004 is found in more than half of the samples. On the other hand, DES is found in all the samples whereas the other metabolites are found sporadically and in very small quantity. An important point found in the results of these 2 studies is the measurement of the pyrethroid exposure. The use of this insecticide class is in constant increase and represents today the most important source of pollution in agriculture and domestic use (10). With this method, the authors also calculate a risk assessment by comparing the mass loads to ADI. This comprehensive approach allows to bring an answer to the ANSES recommendations concerning the development of methods for the evaluation of human exposure, considering all the sources and the ways of contamination (11).

Lexique

Biomarqueur : Modification moléculaire, biochimique, cellulaire ou physiologique, qui révèle l'exposition d'un organisme vivant à un agent chimique.

Cyfluthrine, cyperméthrine, perméthrine: Insecticides de synthèses de la famille des pyréthroïdes

LC-MS/MS : Chromatographie liquide couplée à un détecteur de spectrométrie de masse en tandem.

Organophosphorés : molécules ayant une liaison carbone-phosphore, pour les pesticides se sont généralement des insecticides ou herbicides

Pyréthroïdes : Insecticides de synthèses dérivés de l'acide chrysanthémique retrouvé dans le pyrèthre sauvage.

SPE : extraction en phase solide, méthode de préparation de l'échantillon permettant de séparer les éléments d'un mélange par adsorption sélective.

Standards isotopiques : Molécules pure utilisées en chimie analytique dans laquelle certains atomes ^1H ou ^{12}C sont remplacés par un isotope stable (deutérium ou ^{13}C).

Triazines : Famille de produits chimiques constitués d'un hétérocycle comprenant trois atomes d'azote regroupant trois désherbants (atrazine, simazine, terbuthylazine).

Publications de référence

1 Barr DB, Biomonitoring of exposure to pesticides. *J. Chem. Health Saf.* 2008;15:20–29.

2 Wessels D, Barr DB, Mendola P, Use of biomarkers to indicate exposure of children to organophosphate pesticides: implications for a longitudinal study of children's environmental health. *Environ Health Perspect* 2003;111(16):1939–1946.

3 Yusa V, et al. Occurrence of biomarkers of pesticide exposure in non-invasive human specimens. *Chemosphere* 2015;139:91–108.

4 Heudorf U, Angerer J, Metabolites of pyrethroid insecticides in urine specimens: current exposure in an urban population in Germany. *Environ Health Perspect* 2001;109(3):213–217.

5 Meffe R, de Bustamante I, Emerging organic contaminants in surface water and groundwater: a first overview of the situation in Italy. *Sci Total Environ* 2014;481:280–295.

6 Barr DB et al. Urinary concentrations of metabolites of pyrethroid insecticides in the general U.S. population: National Health and Nutrition Examination Survey 1999–2002. *Environ Health Perspect* 2010;118:742–748.

7 Casteleyn L et al. A pilot study on the feasibility of European harmonized human biomonitoring: strategies towards a common approach, challenges and opportunities. *Environ Res* 2015;141:3–14.

8 Morgan MK et al. An observational study of 127 preschool children at their homes and daycare centers in Ohio: environmental pathways to cis- and trans-permethrin exposure. *Environ Res* 2007;104:266–274

9 Gracia-Lor E et al. Refining correction factors for back-calculation of illicit drug use. *Sci Total Environ* 2016;573:1648–1659.

10 Saillenfait AM et al. Pyrethroids: Exposure and health effects – An update *Environ Health A Int. J. Hyg. Envir. Heal* 2015;218:281-292.

11 Anses. Exposition de la population générale aux pesticides. Bilan des connaissances disponibles et recommandations 2014; <https://www.anses.fr/fr/content/exposition-de-la-population-g%C3%A9n%C3%A9rale-aux-pesticides>.

Revue de la littérature

Kim KH, Kabir E, Jahan SA. Exposure to pesticides and the associated human health effects. *Sci Total Environ* 2017;575(1):525-535

Ye M et al. Pesticide exposures and respiratory health in general populations. *J Environ Sci* 2017;51:361-370.

Masiá A et al. Determination of pesticides and veterinary drug residues in food by liquid chromatography-mass spectrometry: A review. *Anal Chim Acta* 2016;936(14):40-61.

Liens d'intérêts :

Les auteurs déclarent n'avoir aucun lien d'intérêt.

Exposition gestationnelle aux hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAP) - comment évaluer les HAP et quels effets sur les enfants exposés *in utero* ?

Delphine ROUSSEAU-RALLIARD | delphine.rousseau@inra.fr

Inra/ENVA - Biologie du développement et reproduction – Jouy-en-Josas

Mots clés : Développement neuronal, exposition prénatale (gestationnelle), HAP, marqueurs d'exposition, placenta

La pollution atmosphérique est une préoccupation majeure de santé publique affectant particulièrement les populations considérées comme vulnérables, au nombre desquelles figurent depuis peu les femmes enceintes et leur descendance. Si la pollution de l'air comporte une fraction particulaire incluant des particules fines, indubitablement préoccupantes pour la santé, elles contiennent aussi des fractions volatiles et semi volatiles parmi lesquelles on retrouve des gaz, des métaux lourds et des composés organiques dont les hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAP*) de toxicité connue chez l'homme et qui viennent s'adsorber sur les particules (17). Si les HAP sont le plus généralement mis en cause pour leurs propriétés cancérigènes, de nombreux autres effets physiopathologiques leur sont aujourd'hui attribués. Si une tendance à la baisse a été observée ces dernières années pour les émissions de HAP émanant du secteur industriel (sidérurgie...), ce sont désormais les émissions issues du secteur résidentiel/tertiaire (chauffage, cuisson, trafic routier...) qui sont pointées comme sources prédominantes de HAPs par l'Agence Européenne de l'Environnement (AEE). De récentes données épidémiologiques ont montré que la pollution atmosphérique de grandes agglomérations pouvait affecter la croissance fœtale, montrant la vulnérabilité du fœtus face aux polluants chimiques et aux particules dont la pénétrabilité dans l'organisme et le potentiel toxique augmentent quand leur taille diminue (1). La pollution chimique crée ainsi un nouveau paradigme (2) comme contributeur de maladies métaboliques, étendant le concept de la DOHaD* (Origines développementales de la santé et des maladies) aux origines toxiques et autres effets des polluants environnementaux (3). Le fœtus en développement serait donc particulièrement vulnérable à une exposition précoce aux HAP qui pourraient induire des atteintes irréversibles à long terme de son métabolisme et de la mise en place de ses circuits neuronaux (neurotoxicité) avec de possibles répercussions comportementales postnatales (4). Le choix des publications sélectionnées repose sur le fait qu'elles explorent l'exposition prénatale (ou *in utero*) aux HAP en proposant différentes approches de biomonitoring qui permettent de mieux caractériser la réponse métabolique de l'individu et d'évaluer la sévérité potentielle des effets liés à l'exposition aux HAP par le dosage de marqueurs d'exposition. Ces deux études ont été menées en Chine qui est particulièrement éprouvée par les problèmes quasi permanents de pollution de l'air. Les HAP sont encore trop peu souvent pris en compte dans les suivis de population générale, ces études s'y intéressant ouvrent ainsi de nouvelles perspectives en matière de santé au travail et à terme en santé publique.

Exposition prénatale aux hydrocarbures aromatiques polycycliques volatils, méthylation de LINE1 et développement cognitif de l'enfant dans une cohorte chinoise

Lee J. et al. (2017). Prenatal airborne polycyclic aromatic hydrocarbon exposure, LINE1 methylation and child development in a Chinese cohort. *Environ Int.* Vol. 99: p.315-320.

Résumé

Les hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAP) sont des polluants environnementaux neurotoxiques et cancérigènes, générés pendant la combustion incomplète de combustibles fossiles et d'autres matières organiques. Il a été montré que l'exposition aux HAP altère le développement fœtal et induit des modifications

épigénétiques dans les cellules issues de sang du cordon (5). Plusieurs études épidémiologiques ont étudié les adduits des HAP à l'ADN comme biomarqueurs de l'exposition aux HAP, et mis en évidence une diminution de la méthylation globale de l'ADN dans les cellules du sang (6).

Dans le comté de Tongliang, en Chine, la présente étude a recruté deux cohortes de femmes enceintes non fumeuses, l'une avant 2002 (n=110) et l'autre après 2005 (n=107), de façon à encadrer la fermeture d'une centrale au charbon en mai 2004. L'objectif était d'étudier la relation entre le niveau de méthylation des LINE1* avec les niveaux d'adduits à l'ADN des HAP, dans les leucocytes du sang du cordon ombilical, mais aussi avec les résultats neuro-développementaux obtenus pendant l'enfance chez les enfants de ces femmes exposées ou non aux HAP pendant leur grossesse (7). Le développement neurologique des enfants de deux ans a été évalué selon le modèle GDS* de

Gesell et pour les enfants de cinq ans, à l'aide des scores d'intelligence de Wechsler (WISC). Les auteurs ont mis en évidence une corrélation significativement négative entre les adduits à l'ADN des HAP et la méthylation de l'ADN de LINE1 pour les deux cohortes combinées. Les auteurs ont trouvé une association significativement positive entre la méthylation de LINE1 et les scores de WISC (notamment pour le sous-test verbal) pour la cohorte de 2002, mais aucune association avec le modèle GDS. Aucune interaction entre ces deux associations n'a pu être établie.

Les auteurs concluent que le niveau de méthylation de LINE1 dans les cellules du sang de cordon pourrait être un facteur prédictif positif du QI des enfants à cinq ans, et que ce niveau de méthylation diminue quand l'exposition aux HAP augmente, reflété par une augmentation des adduits à l'ADN des HAP. Toutefois les effets de l'exposition prénatale aux HAP sur le QI ne sont pas directement médiés par l'altération de la méthylation de LINE1.

Commentaire

La recherche de biomarqueurs d'exposition aux HAP et/ ou d'effets induits par les HAP est une thématique de plus en plus importante et essentielle dans le contexte actuel de problèmes récurrents voire chroniques de pollution de l'air, notamment en Chine, mais également en Europe, même si les niveaux d'exposition et les sources de polluants ne sont pas les mêmes. Les HAP sont des polluants ubiquitaires de l'environnement. Certains d'entre eux sont cancérogènes pour l'homme, il apparaît donc primordial d'évaluer l'exposition des individus à ces composés. Pour cela, la mesure des adduits à l'ADN est d'un intérêt majeur puisqu'elle permet de quantifier la dose génotoxique (16). Pour cela, une méthode analytique par chromatographie liquide haute performance couplée à une détection par fluorescence a été mise au point pour permettre le dosage spécifique de ces adduits, avec une limite de détection de l'ordre de 1 adduit/10⁸ nucléosides normaux. Ce qu'il manque dans cette étude, c'est une quantification des HAP auxquels ont été exposées les femmes enceintes ainsi que le nombre d'échantillons pour lequel les adduits d'ADN étaient inférieurs à la LQ. Ce nombre est élevé car 20% d'entre eux l'étaient pour la cohorte de 2002 avant la fermeture de la centrale à charbon et plus de 50% l'étaient après la fermeture. De ce fait, mettre systématiquement la valeur correspondant à LQ/2 pour 80 échantillons sur les 217 collectés pose un problème méthodologique et rend les résultats critiquables. Ceci pourrait expliquer que les résultats de cette étude soient différents de ceux d'une étude antérieure menée par la même équipe chez des sujets plus exposés.

Cette étude reprend des résultats déjà publiés antérieurement que les auteurs ont cherché à corrélés à un proxy de méthylation globale de l'ADN, à partir de LINE1*. La technique utilisée pour étudier la méthylation de LINE1 se fait après traitement de l'ADN au bisulfite par pyroséquençage. C'est une technique éprouvée, notamment dans le domaine de la cancérologie. Pour l'évaluation neuro-développementale des enfants, le GDS* a été révisé par le groupe coopératif de développement mental de Pékin (en 1985) et adapté à la population chinoise. Pour les scores de QI, il faut savoir que l'évaluation

WISC* a été standardisée auprès d'enfants francophones au Canada. Le profil du fonctionnement cognitif résultant de la seule interprétation des résultats ne permet pas un diagnostic, il permet seulement d'élaborer des hypothèses. L'une des limites de ce test est que certains sous-tests dénotent un problème culturel quant au choix de questions ciblant divers sujets. D'une culture à l'autre, le type de stimulation offert à l'enfant varie et peut donc influencer les résultats de l'enfant. Ce test a été adapté aux petits chinois, cependant il a été montré que les normes américaines (anglophones) permettent l'obtention de scores plus élevés que les normes canadiennes-anglaises, or, rien ne vient justifier ces écarts de cotation, hormis le fait que les populations visées sont culturellement différentes et que ces scores doivent refléter l'apport culturel que chaque enfant doit avoir pour pouvoir réussir le test. En outre cette étude montre l'importance des tests choisis, et surtout l'importance de pouvoir suivre les enfants sur plusieurs années, puisque l'absence d'effet à un âge donné ne signifie pas qu'il n'y aura pas d'effet à plus long terme, compte-tenu du développement neuronal qui se poursuit pendant l'enfance.

Transfert transplacentaire d'hydrocarbures aromatiques polycycliques dans des échantillons appariés de sérum maternel, de sérum de cordon ombilical et de placenta à Shanghai (Chine)

Zhang X. et al. (2017). Transplacental transfer of polycyclic aromatic hydrocarbons in paired samples of maternal serum, umbilical cord serum, and placenta in Shanghai, China. *Environ Pollut.* vol. 222: p.267-275.

Résumé

L'exposition prénatale aux hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAP*) est un problème de santé publique hautement prioritaire en Chine, où l'urbanisation est galopante et le transport routier exponentiel. Les HAP sont surtout connus pour leurs effets cancérogènes et leur génotoxicité, mais des effets négatifs leur sont attribués concernant certaines issues de grossesse et le développement post-natal du système nerveux des enfants exposés *in utero*. Pourtant, le transfert transplacentaire des HAP de la mère au fœtus reste peu évalué (8-10). L'objectif de cette étude était d'étudier le passage transplacentaire des HAP et si possible, d'évaluer ce transfert d'HAP de la mère au fœtus. Les auteurs ont mesuré les concentrations de 15 HAP dans 95 sérums maternels et ombilicaux appariés, et autant d'échantillons de placenta collectés à Shanghai, en Chine. La présence d'HAP dans le sérum du sang de cordon ombilical a prouvé ce transfert transplacentaire. La concentration moyenne en HAP totaux, normalisée sur les concentrations de lipides, était plus élevée dans les sérums maternels (1290 ng/g de lipides), que dans les sérums extraits de sang de cordon (1150 ng/g de lipides). La concentration en HAP était encore plus faible dans les échantillons de placenta (673 ng/g de lipides). La majorité des HAP mesurés étaient des HAP de faibles poids moléculaires. Les auteurs ont ensuite focalisé leur intérêt

sur des calculs de rapports entre les différents compartiments analysés sur les échantillons appariés. Ils ont ainsi étudié i) le rapport F/M entre les concentrations de HAP dans les sérums de cordon ombilical (F) et des mères (M) et ii) le rapport P/M entre les concentrations de HAP dans le placenta (P) par rapport à celles du sérum maternel (M). La plupart des rapports F/M, étaient proches de 1 (de 0,79 à 1,36) alors que les rapports P/M étaient inférieurs à 1 (sauf pour le PHE), suggérant que le transfert transplacentaire des HAP faisait l'objet d'une diffusion passive du sérum maternel vers la circulation fœtale.

Les auteurs ont également montré que le transfert de la mère au fœtus était d'autant plus important que le log K_{ow} des HAP était faible (les moins lipophiles); ainsi quatre HAP de faible poids moléculaire (PHE*, FLO*, PYR* ou > FLA* en fonction des sérums) ont été majoritairement détectés dans les trois matrices étudiées (quelle que soit l'unité d'expression de ces analyses) comme dans d'autres études (8-9) qui évaluaient les effets de sources de pollution.

Commentaire

Cette étude est intéressante car elle cherche à caractériser l'exposition à la pollution de l'air en ciblant plus particulièrement les HAP, qui sont des polluants de l'air et peu analysés dans la population générale à cause de méthodologies très lourdes nécessaires à leur détermination et leur quantification (utilisation de GC-MS*). Cette étude s'intéresse aux femmes enceintes, qui font partie des personnes jugées vulnérables, ainsi que les enfants et les personnes âgées, et chez lesquelles un biomonitoring pourrait être assez facilement mis en œuvre en fin de grossesse. Les femmes dont les métiers pouvaient les exposer aux HAP ont été exclues du recrutement, cette étude s'adresse donc à l'exposition en population générale. Les auteurs ont pris le parti de quantifier les HAP par rapport aux lipides sériques ou placentaires, ce qui est une bonne idée compte-tenu du caractère lipophile des polluants considérés. En effet, il est admis que les teneurs en contaminants organiques lipophiles suivent les mêmes variations que celles des lipides. C'est pourquoi les lipides peuvent être utilisés comme cofacteurs des polluants lipophiles pour réduire la variabilité des teneurs en contaminants imputables aux facteurs biologiques. La prise en compte des lipides devrait ainsi permettre une meilleure interprétation des mesures de contaminants effectuées dans le cadre des programmes de surveillance ou lors des études sur les processus de bio accumulation. L'extraction des HAP et des lipides a été réalisée conjointement sur la même prise d'essai ce qui constitue un gain de temps d'analyse non négligeable et peut permettre d'éliminer les problèmes liés au manque d'homogénéité des échantillons. Cependant, le choix des lipides totaux comme cofacteur peut aussi être remis en question, au profit de l'utilisation de l'une ou l'autre des classes de lipides voire même de l'un ou l'autre des acides gras contenus dans les extraits. Par ailleurs cette utilisation des lipides a été controversée par certains auteurs car la corrélation contaminant-lipides n'est pas toujours clairement établie à cause de la diversité des techniques de préparation et d'extraction des échantillons susceptible d'induire des différences au niveau de la quantité de lipides extraits ou dans la composition de ces

extraits lipidiques. Il est donc important que la méthode utilisée soit clairement décrite et conduise à déterminer les teneurs en lipides avec autant de précision que celles des contaminants (d'après le dernier rapport OECD 305 sur la thématique). Cependant si les dosages de lipides sont utilisés comme cofacteurs, leurs quantifications ne sont présentées nulle part dans l'article, il aurait été intéressant de donner ces résultats de quantification, ne serait-ce que pour évaluer si l'exposition des fœtus était vraiment du même ordre de grandeur que celle de leur mère. Les auteurs ont néanmoins présenté les dosages de HAP en ng/ml de sérum ou /g de placenta. Un autre point limitant de cette étude est la quantité de matériel biologique utilisée pour les analyses. En effet les analyses ont nécessité des échantillons de 4-5 mL de sérum maternel et 8-12 mL de sérum extraits de sang de cordon, ainsi que de 3-4 g de placenta lyophilisé, ce qui rend la faisabilité en routine de ce type de dosage quasi-impossible en dehors de prélèvements prévus dans le cadre d'études prospectives. Ils ont utilisé l'extraction de Soxhlet, une technique très coûteuse en temps (72h) et en solvant puisqu'elle nécessite 200mL de dichlorométhane par échantillon.

Enfin, il est regrettable que l'étude du transfert du benzo(a)pyrène, HAP le plus toxique, n'ait pas pu être conduite du fait d'un manque de sensibilité de la technique analytique (GC-MS).

Malgré cela, l'étude confirme tout à fait le passage transplacentaire des HAP et l'importance de prendre en compte les HAP dans l'évaluation des expositions à la pollution de l'air quand elle concerne les femmes enceintes et les fœtus, particulièrement vulnérables. L'absence de corrélation entre les concentrations en HAP mesurées dans le sérum maternel et le placenta suggère une métabolisation des HAP au sein de cet organe qu'il conviendrait d'investiguer de manière plus approfondie.

CONCLUSION GÉNÉRALE

Les expositions aux HAP sont fortement suspectées d'être associées à certaines maladies chroniques (tels que les cancers, les maladies cardiovasculaires et les troubles neurologiques), des efforts significatifs ont été réalisés afin d'évaluer l'exposition humaine à ces polluants environnementaux. Les fœtus sont particulièrement sensibles aux HAP, lesquels passent par diffusion passive de la mère au fœtus à travers le placenta. Les techniques d'analyses mettant en œuvre des technologies lourdes de spectrométrie de masse en tandem se développent pour analyser ces composés et leurs métabolites dans les différents compartiments biologiques accessibles chez le couple mère-enfant (cellules du sang maternel ou du sang de cordon, placenta). Une harmonisation des unités de mesure de ces composés pourrait aider à la comparaison des études qui se sont intéressées au dosage des HAP. Au cours des dernières décennies, la pertinence des mesures d'adduits à l'ADN comme biomarqueurs d'exposition et de dose biologiquement effective pour l'évaluation de l'exposition humaine aux HAP a été démontrée bien qu'un manque de sensibilité dans les mesures persiste. Cependant, outre la quantification de l'exposition, il faut pouvoir évaluer les effets de ces HAP absorbés par l'organisme. Si les HAP sont surtout connus pour leurs effets cancérogènes (essentiellement les HAP particuliers ayant un poids moléculaire élevé), tous les HAP n'ont pas les mêmes effets génotoxiques. Ainsi les HAP présents dans les mélanges environnementaux, y compris ceux de faibles poids moléculaires devraient pouvoir être identifiés individuellement pour leurs potentiels effets délétères, notamment dans le cadre de la programmation fœtale de maladies métaboliques à l'âge adulte.

GENERAL CONCLUSION

Exposures to PAH are strongly suspected of being associated with chronic diseases (such as cancers, cardiovascular diseases and neurological disorders), significant efforts have been made to assess human exposure to these environmental pollutants. The fetuses are particularly susceptible to PAH, which pass through passive diffusion from the mother to the fetus across the placenta. Heavy analytical techniques using tandem mass spectrometry technologies have been developed to analyze these compounds and their metabolites in the different biological compartments accessible to the mother-child couple (maternal blood or cord blood cells, placenta). The harmonization of the units of measurement of these compounds would be useful in the comparison of studies that are concerned with the determination of PAH. In recent decades, the relevance of DNA adduct measurements as biomarkers of exposure and biologically effective dose for the assessment of human PAH exposure has been clearly demonstrated. Apart from quantifying the exposure, it is also necessary to be able to evaluate the effects of these PAH once they have reached the body. Although PAH mainly of high molecular weights, are known primarily for their carcinogenic effects, not all PAH may have the same genotoxic effects, thus every PAHs, including those with low molecular weights, should be individually identified for their potentially deleterious effects, in the particular context of fetal programming of metabolic diseases at adulthood.

Lexique

DOHaD : *Developmental Origin of Health and Disease* (origines développementales de la santé et des maladies) ; ce concept a vu le jour sous l'impulsion de David Barker il y a environ trente ans ; tout facteur de l'environnement maternel pendant la grossesse (incluant aujourd'hui les polluants de l'environnement) peuvent affecter le développement fœtal avec des répercussions à long terme sur la santé de l'adulte.

FLA : Le fluoranthène est un HAP dérivant structurellement d'un naphthalène lié à un benzène par deux liaisons simples formant avec celui-ci un cycle pentagonal.

FLO : Le fluorène ou 9H-fluorène est un composé chimique de la famille des HAP. Son nom provient du fait qu'il émet une lumière fluorescente violette sous lumière ultraviolette (UV). Il est naturellement présent dans le goudron, en faible quantité, avec d'autres HAP, dans les produits de chauffage ou de combustion avec teneur réduite en oxygène, ainsi que dans les produits de combustion de l'essence ou du diesel.

GC-MS : La chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (en anglais *Gas Chromatography-Mass Spectrometry*) est une technique d'analyse qui combine les performances de la chromatographie en phase gazeuse, pour la séparation des composés d'un échantillon,

et de la spectrométrie de masse, pour la détection et l'identification des composés en fonction de leur rapport masse sur charge.

GDS : (pour *Gesell Developmental Schedules*) Il s'agit d'une évaluation du développement psychomoteur et psychologique intellectuel du nourrisson et de l'enfant normal comprenant schématiquement l'évaluation des acquisitions motrices et des capacités cognitives de l'enfant en s'assurant de la normalité de la croissance cérébrale.

HAP : Hydrocarbures Aromatiques Polycycliques, polluants ubiquitaires générés par la combustion incomplète de matière organique (diesel, chauffage, industrie...). Ils présentent une fluorescence induite par les ultraviolets. Les HAP constituent une famille de polluants dont les congénères n'ont pas tous la même toxicité, en fonction de leur poids moléculaire. Seul le benzo-a-pyrène est classé dans le groupe 1 du CIRC. De nombreux autres HAP particuliers sont classés dans le groupe 2.

Kow : Le coefficient de partage entre Octanol et Eau (Kow) qui exprime la lipophilie d'un composé. Le coefficient de partage P est égal au rapport des concentrations du soluté dans les deux phases : $P = C'/C$ avec (C' et C les concentrations en soluté dans l'octanol et dans l'eau, respectivement). Si $C' > C$ alors $P > 1$ et $Kow = \log P > 0$, le soluté est dit lipophile (hydrophobe) ; si $C' < C$ alors $P < 1$ et $\log P < 0$, le soluté est dit hydrophile. Ce coefficient est utilisé pour estimer, de façon indirecte, le facteur de bioconcentration.

LINE1 : Les longs éléments nucléaires intercalés (LINE pour *long interspersed nuclear elements*) font partie des séquences répétées dispersées au sein de l'ADN. Leur longueur est en général de quelques milliers de paires de bases et leur nature exacte varie suivant les espèces. Chez les primates, les principales séquences LINE sont une famille appelée LINE-1 dont il existe plusieurs centaines de milliers de copies dans le génome (21% du génome humain est constitué de LINE). Ces séquences LINE actives sont capables de réplication autonome, leur permettant de se dupliquer et de s'insérer à d'autres sites dans le génome. Leur réplication passe par un intermédiaire ARN, ce sont des rétro-transposons sans séquence terminale longue répétée (LTR), donc non viraux.

PHE : Le phénanthrène est un HAP composé de trois anneaux (noyaux ou cycles) de benzène (C'est un HAP dit « tricyclique »). Le phénanthrène provient essentiellement d'une mauvaise combustion de bois, charbon ou pétrole. Il est généralement associé à la formation de goudron.

PYR : Le pyrène est un composé chimique de formule C₁₆H₁₀ de la famille des HAP, organisé en quatre noyaux benzéniques fusionnés.

WISC scores : (pour *Wechsler Intelligence Scale for Children*) Il s'agit d'un test de quotient intellectuel (QI) pour enfants de 5-16 ans, permettant de situer un élève par rapport à son groupe de référence (autres élèves du même âge), en ce qui concerne son résultat à l'échelle globale ainsi que de détecter les forces et faiblesses personnelles de l'enfant par rapport à ses résultats aux différents sous-tests.

Publications de référence

1 Backes CH, Nelin T, Gorr MW, Wold LE. Early life exposure to air pollution: how bad is it? *Toxicology letters* 2013; 216: 47-53

2 Schell LM, Burnitz KK, Lathrop PW. Pollution and human biology. *Annals of human biology* 2010; **37**: 347-366

3 Haugen AC, Schug TT, Collman G, Heindel JJ. Evolution of DOHaD: the impact of environmental health sciences. *Journal of developmental origins of health and disease* 2015;6: 55-64

4 Margolis AE, Herbstman JB, Davis KS, et al. Longitudinal effects of prenatal exposure to air pollutants on self-regulatory capacities and social competence. *Journal of child psychology and psychiatry, and allied disciplines* 2016;57 : 851-860

5 Tang, D., Li, T.Y., Chow, J.C., et al. Air pollution effects on fetal and child development: a cohort comparison in China. *Environ. Pollut.* 2014 ;185 :90-96.

6 Herbstman, J.B., Tang, D., Zhu, D., et al. Prenatal exposure to polycyclic aromatic hydrocarbons, benzo[a]pyrene-DNA adducts, and genomic DNA methylation in cord blood. *Environ. Health Perspect.* 2012 ;120 (5) :733-738.

7 Perera, F., Li, T.Y., Zhou, Z.J., et al. Benefits of reducing prenatal exposure to coal-burning pollutants to children's neurodevelopment in China. *Environ. Health Perspect.* 2008;116 (10):1396-1400.

8 Tsang HL, Wu SC, Leung CKM et al. Body burden of POPs of Hong Kong residents, based on human milk, maternal and cord serum. *Environ. Int.* 201 ;37, 142-151.

9 Yu YX, Wang XL, Wang B et al. Polycyclic aromatic hydrocarbon residues in human milk, placenta, and umbilical cord blood in Beijing, China. *Environ. Sci. Technol.* 2011 ;45.

10 Bergonzi R, De Palma G, Specchia C et al. Persistent organochlorine compounds in fetal and maternal tissues: evaluation of their potential influence on several indicators of fetal growth and health. *Sci. Total Environ.* 2011;409.

Revue de la littérature parues dans la période de veille

Ewa B, Danuta MŠ. Polycyclic aromatic hydrocarbons and PAH-related DNA adducts. *J Appl Genet.* 2016 Dec 12. Review.

Perera FP. Multiple threats to child health from fossil fuel combustion: impacts of air pollution and climate change. *Environ Health Perspect* 2017; 125:141-148;

Madeen EP, Williams DE. Environmental PAH exposure and male idiopathic infertility: a review on early life exposures and adult diagnosis. *Rev Environ Health.* 2016 Dec 9.

Liens d'intérêts :

Les auteurs déclarent n'avoir aucun lien d'intérêt.

Dioxine et cellules souches : la double peine

Benoît MIOTTO et Anne LETESSIER | Benoit.miotto@inserm.fr

Inserm U1016, CNRS UMR8104, Univ. Paris Descartes - Institut Cochin - Paris

Mots clés : **Cancer, cellules souches, différenciation cellulaire, dioxine, polluants persistants**

La dioxine (ou TCDD*) est un composé chimique classé cancérigène par l'OMS*. Ce polluant organique persistant émis dans les gaz d'origine automobile ou industrielle est présent dans l'air que nous respirons ainsi que dans notre alimentation. L'alimentation est d'ailleurs la source majeure de l'exposition humaine au TCDD, suite à l'ingestion d'aliments (œuf, lait, poisson, viande...) issus d'animaux contaminés. Les effets néfastes des dioxines sur la santé sont avérés et de plus en plus documentés dans la population humaine. Il a ainsi été montré que l'exposition à la dioxine est liée à l'incidence de certains cancers et à des défauts du système immunitaire (1-4). Plusieurs politiques de santé publique, notamment en France et en Europe ont d'ailleurs pour objectifs de limiter la production et le rejet des dioxines ainsi que l'exposition des individus à ces composés (renforcement des contrôles et des normes, abattage des animaux contaminés...). Comprendre comment la dioxine perturbe le fonctionnement de la cellule est donc essentiel. Cela permettra à terme de mieux évaluer les risques biologiques associés aux dioxines et de permettre une meilleure politique de prévention et de prise en charge des personnes. Le TCDD est un activateur du récepteur aux xénobiotiques AHR*, qui est un facteur de transcription essentiel à la cellulaire, et qui joue un rôle dans le contrôle des effets toxiques des dioxines et autres polluants de l'environnement. Des études récentes montrent qu'AHR serait impliqué, physiologiquement, dans le contrôle du cycle cellulaire, dans la modulation du système immunitaire, dans le développement embryonnaire, dans le renouvellement et la différenciation des cellules souches.

Les deux articles de cette note s'intéressent aux conséquences de l'activation d'AHR par le TCDD dans le devenir des cellules souches* normales et cancéreuses*. Dans l'article de Li et al., les auteurs montrent que le TCDD, en activant AHR, altère l'engagement des cellules souches hématopoïétiques (CSH*) dans la lymphopoïèse B*. Dans l'article d'Al-Dhfyhan et al., les auteurs montrent que le TCDD favorise l'expansion des cellules souches cancéreuses mammaires (CSCM*) via AHR et que cela a un impact sur la réponse aux traitements utilisés en clinique.

Ces deux publications permettent une description plus aboutie du rôle d'AHR dans les cellules souches normales et cancéreuses et de l'effet du TCDD sur ces mêmes cellules.

L'activation du récepteur aux xénobiotiques AHR par la dioxine altère la lymphopoïèse B chez l'Homme.

Li J. et al. (2017). Aryl hydrocarbon receptor activation by 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin impairs human B lymphopoiesis. *Toxicology*, vol. 378: p.17-24.

Résumé

Dans cette étude, les auteurs analysent l'effet de la dioxine (TCDD), activateur d'AHR, sur la différenciation des cellules souches hématopoïétiques (CSH) en lymphocyte B. Cette étude s'inspire de plusieurs observations indiquant que certains antagonistes d'AHR favorisent l'expansion des cellules souches hématopoïétiques (CSH) (5). Un modèle cellulaire est développé, dans lequel des cellules souches issues de cordons embryonnaires sont co-cultivées avec des cellules du stroma de la moelle épinière et un cocktail de cytokines*. Dans ce modèle, les CSH se différencient à 20 jours de cultures, en progéniteurs hématopoïétiques (CSPH) puis éventuellement en lymphocytes B. Ces cellules expriment des marqueurs moléculaires qui permettent leur identification par la technique de FACS*, à l'aide d'anticorps spécifiques. Grâce à ce modèle les auteurs ont pu tester l'effet de l'exposition à J0 de doses croissantes de TCDD (de 1 à 30nM) sur le devenir des CSH au cours de la

différenciation. Le nombre total de cellules diminue de façon significative même à la plus faible concentration de TCDD et cette diminution n'est pas liée à l'augmentation de la mort cellulaire par apoptose ou nécrose. Le nombre de cellules exprimant le marqueur de surface CD34, spécifique des CSH actives, diminue également de façon significative ainsi que le niveau d'expression moyen de CD34 par cellule. Les auteurs montrent aussi que plusieurs molécules agonistes d'AHR, et dérivées du TCDD, bloquent également la prolifération des CSH. Ces molécules induisent une diminution du nombre de cellules totales, du nombre de cellules exprimant le marqueur CD34 et du niveau d'expression de CD34. De plus l'effet de ces molécules serait directement proportionnel à leur capacité à activer AHR. Les auteurs montrent enfin que les CSH sont capables de se différencier en pré-lymphocytes B au cours de l'expérience, même en présence de TCDD, en analysant le marqueur CD19 par FACS. Le marqueur CD19 est spécifique des cellules engagées dans la lymphopoïèse B. Toutefois, le nombre de cellules CD19 positives est significativement diminué quel que soit la concentration de TCDD utilisée, ce qui suggère que l'engagement des CSH dans la lymphopoïèse B est compromise et que le TCDD induit une altération précoce du développement des lymphocytes B. Les auteurs valident ces résultats en utilisant des CSH cultivées sans cellules du stroma de la moelle épinière. Les auteurs concluent que l'activation d'AHR par le TCDD a un

rôle direct sur les CSH, que le TCDD altère le développement des CSH en lymphocytes B, et que le TCDD peut avoir un impact significatif sur l'immunité humorale*.

Commentaire

L'intérêt de cet article repose sur le fait que la sensibilité des CSH au TCDD est étudiée pour la première fois, certes *in vitro*, dans des cellules humaines. Afin de mieux comprendre les effets biologiques du TCDD sur les CSH, les auteurs utilisent un système de co-cultures de cellules humaines permettant d'étudier la lymphopoïèse B. De manière intéressante, la dose la plus faible de TCDD utilisée est équivalente à ce que l'on a pu mesurer dans le sérum de personnes exposées après l'accident de Seveso (Italie – 1976), soit 1 nM. Dans le cas des personnes exposées, la dioxine cause une diminution significative de la lymphopoïèse B. Les auteurs n'ont toutefois pas analysé tous les stades de différenciation des CSH en lymphocytes B, ce qui aurait permis de déterminer l'impact du TCDD à tous les niveaux de la lymphopoïèse B. Il est intéressant de noter que d'autres dioxines testées sur les CSH ont un effet similaire au TCDD. Tous ces effets se font via le récepteur AHR et sont corrélés au degré d'affinité de la liaison de cette dioxine avec AHR. Les lymphocytes B ayant une demi-vie de trois à huit semaines, leur renouvellement doit se faire continuellement par les CSH. De ce fait, l'exposition au TCDD qui altère l'engagement des CSH dans la lymphopoïèse B, pourrait compromettre le renouvellement des lymphocytes B et donc l'immunité humorale. Cette étude devrait être complétée afin d'analyser l'effet de l'activation d'AHR par le TCDD, sur l'expression des gènes ainsi que les voies de signalisation impliquées dans ce défaut de différenciation des CSH en lymphocytes B.

La voie du récepteur aux xénobiotiques (AHR) / cytochrome P450 1A1 favorise l'expansion des cellules souches cancéreuses mammaires via l'inhibition de PTEN et l'activation de β -caténine et Akt.

Al-Dhfyhan A. (2017). Aryl hydrocarbon receptor/cytochrome P450 1A1 pathway mediates breast cancer stem cells expansion through PTEN inhibition and β -Catenin and Akt activation. *Mol Cancer*, vol.16(1): p.14.

Résumé

Les cellules souches cancéreuses mammaires (CSCM*) représentent une sous-population tumorale qui serait impliquée dans l'initiation, la progression et l'invasion tumorale. AHR jouerait un rôle dans l'expansion de ces CSCM, mais les mécanismes restent peu connus (7-8). Les auteurs de ces travaux étudient les effets biologiques de l'activation ou de l'inhibition d'AHR sur les CSCM *in vitro* et *in vivo*, et identifient des voies de signalisation impliquées dans ces effets. La technique de référence *in vitro*, dite de « mammosphères »*, qui permet de conserver les CSCM dans un état indifférencié est utilisée. Les auteurs identifient également des sous-populations de CSCM par la technique de FACS comme la population dite SP* et la population ALDH+*. La RT-PCR* permet de comparer le

niveau d'expression des ARN messagers de *CYP1A1* et *CYP1B1*, deux gènes cibles d'AHR, dans les CSCM non-adhérentes (ou mammosphères) et les cellules adhérentes issues de cinq lignées cellulaires de cancer du sein. Le niveau basal de ces gènes, particulièrement du cytochrome *CYP1A1*, est significativement plus élevé dans les mammosphères, sauf pour l'une des lignées (MDA-MB231). Les auteurs choisissent d'utiliser la lignée MCF-7, dont le niveau d'expression de *CYP1A1* dans les mammosphères est le plus élevé. Le traitement des cellules MCF-7 avec des agonistes d'AHR, tels que le TCDD ou le DMBA*, augmente de façon significative le nombre de mammosphères, de cellules ALDH+ et de cellules SP*. Ces effets sont bloqués par l'utilisation de l' α -NF, un antagoniste de la voie AHR/*CYP1A1* ou l'utilisation d'un shRNA (ARN anti-sens) dirigé contre AHR. *In vivo*, les auteurs utilisent un modèle murin de tumorigenèse inductible par le DMBA. Une analyse histopathologique des tissus des glandes mammaires des souris traitées au DMBA indique la présence de cellules tumorales prolifératives et une forte augmentation du niveau d'expression de *CYP1A1* et des marqueurs ALDH.

Les auteurs s'attachent à identifier des voies de signalisation impliquées dans la transmission de l'effet d'AHR, en utilisant différents inhibiteurs pharmacologiques. Ils montrent que l'augmentation du nombre de cellules ALDH+ induit par le TCDD, est inhibée en présence d'un inhibiteur de la voie WNT*. Cette voie WNT est confirmée à l'aide d'un effecteur de cette voie, la β -caténine, qui se relocalise dans le noyau en réponse au TCDD et au DMBA. L'inactivation d'AHR bloque la relocalisation de la β -caténine alors que l'inhibition de *CYP1A1* conduit à l'extinction de l'expression du gène. AHR est donc important pour l'activation de la voie WNT/ β -caténine, également importante pour le renouvellement des CSCM. Enfin les auteurs montrent que le TCDD et le DMBA conduisent à une extinction de l'expression de PTEN* et à une activation de la voie AKT/PI3K* aussi bien *in vitro* que *in vivo*. L'inhibition de la voie AHR/*CYP1A1* (en utilisant le α -NF ou un shRNA dirigé contre AHR) est testée sur la réponse à la doxorubicine*, un agent anti-cancéreux. Les auteurs montrent que l'inhibition d'AHR conduit à l'augmentation de la mort cellulaire en réponse à la doxorubicine avec un effet plus marqué dans les CSCM.

La modulation de la voie AHR/*CYP1A1* aurait un impact significatif dans le contrôle de la prolifération, du maintien et de la capacité de renouvellement des CSCM, via des mécanismes impliquant les voies WNT/ β -caténine et PTEN-PI3K/AKT. L'utilisation de l' α -NF permettrait d'augmenter la sensibilité des CSCM aux traitements anti-cancéreux.

Commentaire

L'intérêt de cet article repose sur la démonstration de l'importance de la signalisation AHR dans les CSCM. Elle fait suite à une étude précédente démontrant que le TCDD augmente la prolifération des CSCM, le nombre et la taille des mammosphères. Pour la première fois, la coopération entre AHR/*CYP1A1* et les voies de signalisation WNT/ β -caténine et PTEN-PI3K/AKT, connues pour leur rôle dans le contrôle de la prolifération, est mise en évidence dans les CSCM. Elles sont d'importance puisqu'elles montrent

comment l'activation d'AHR conduit à la propagation des CSCM. Cet état est notamment important pour la propagation des cancers mais aussi dans la récurrence et la résistance à certaines chimiothérapies. Les auteurs montrent ce dernier point en testant la sensibilité à la doxorubicine, un agent chimiothérapeutique couramment utilisée en clinique. Bien que les résultats *in vitro* soient fortement confortés par ceux obtenus *in vivo*, les auteurs ont confiné leur étude à une seule lignée cellulaire (MCF-7). Il serait souhaitable de confirmer ces résultats dans plusieurs lignées cellulaires et dans les tumeurs mammaires humaines. L'utilisation d'inhibiteurs chimiques (à une seule dose) pour perturber l'activité des voies AKT et WNT demande aussi des études complémentaires pour valider la spécificité de leur effet. L'étude suggère au final que l'exposition à la dioxine en favorisant la propagation des CSCM pourrait altérer la réponse à certains traitements chimio-thérapeutiques et, en ce sens, les voies WNT et AKT semblent des cibles thérapeutiques d'intérêt.

CONCLUSION GÉNÉRALE

Comprendre comment le TCDD perturbe le fonctionnement de la cellule permettra de mieux évaluer les risques associés à la dioxine. Les articles sélectionnés nous permettent de mieux comprendre les effets liés à l'activation d'AHR par la dioxine TCDD dans les cellules souches normales et cancéreuses. L'article de Li et al. montre qu'une exposition à la dioxine altère l'engagement des CSH dans la différenciation en lymphocytes B et donc possiblement l'immunité humorale. L'article d'Al-Dhfyar et al. montre que l'activation de la voie AHR/CYP1A1, inducible par le TCDD, favorise la prolifération des cellules souches cancéreuses dans les cancers du sein et pourrait avoir un impact sur la chimiorésistance. Les deux études confirment la toxicité du TCDD et son impact délétère pour l'homme. Du fait de l'action persistante du TCDD sur AHR et ses conséquences biologiques sur les cellules souches, tant normales que cancéreuses, il paraît essentiel de mettre en place des actions pour limiter l'exposition à la dioxine, ainsi que des outils pour identifier les populations exposées (et leur niveau d'exposition). En effet, les deux études montrent que le taux d'exposition d'un individu à la dioxine pourrait être un facteur de risque de défaut d'immunité humorale et un facteur important dans la prise en charge globale des patients atteints de cancer du sein.

GENERAL CONCLUSION

Understanding how dioxin (TCDD) perturbs cell fate is a central question to comprehend the causal relationship between TCDD-exposure and the incidence of cancer or immune diseases. Two additional studies show that AHR play a central function in stem cells that may explain clinical features of patients exposed to dioxin. In normal hematopoietic stem cells activation of AHR by TCDD reduces their ability to differentiate into mature B lymphocyte which may be the underlying mechanism of immune diseases. In breast tumors, cancer stem cells activation of AHR by TCDD causes increased self-renewal of cancer stem cells and have an impact on chemoresistance. Both studies further reinforce the idea that TCDD exposure is detrimental to human health and demonstrate that TCDD alter the biology of normal and cancer stem cells.

Lexique

AHR : Récepteur aux hydrocarbures aromatiques. C'est un facteur de transcription activé par des ligands endogènes (produit par l'organisme) ou extracellulaires (polluants).

ALDH ou Aldéhyde deshydrogénase : l'activité de l'ALDH est importante dans les CSCM.

Alpha-naphtoflavone ou α -NF : Molécule chimique et ligand antagoniste du récepteur AHR.

CS ou Cellules souches: Cellules ayant pour caractéristique de pouvoir se renouveler à l'infini et de se différencier sous contrôle.

CSC ou Cellules souches cancéreuses: Cellules cancéreuses capable d'initier une tumeur, de lui permettre de progresser, de former des métastases et de résister aux thérapies anti-cancéreuses.

CSCM ou cellules souches cancéreuses mammaires: Cellules capables de survivre et de proliférer dans des milieux sans sérum, en condition non-adhérentes et former des mammosphères ou tumosphères reproduisant l'hétérogénéité phénotypique d'une tumeur.

CSH ou cellules souches hématopoïétiques : Sous-population de cellules donnant naissance à toutes les lignées du sang par un processus de différenciation qui s'accompagne de la perte des marques « souches », et de maintenir l'homéostasie cellulaire pendant la vie d'un individu. Cellules ayant la capacité d'auto-renouvellement et multipotentes.

CSPH ou cellules souches et progéniteurs hématopoïétiques : Sous-population de cellules qui comportent des CSH et des progéniteurs hématopoïétiques. Les progéniteurs sont des cellules déjà différenciées qui perdent leur capacité de multipotence et d'auto-renouvellement et qui vont donner naissance à des lignées sanguines distinctes : myéloïde ou lymphoïdes.

Cytokines : Molécules produites par des cellules du système immunitaire pour réguler l'activité ou la fonction d'autres cellules, dont la régulation de la différenciation des cellules lors de l'hématopoïèse.

DMBA : Diméthylbenzanthracène qui est un agent mutagène, couramment utilisé en recherche pour étudier le processus cancéreux. Il permet d'initier la formation de tumeurs. Ligand du récepteur AHR.

Doxorubicine : Composé anti-cancéreux utilisé dans le traitement du cancer du sein. Également appelé Adriamycine™.

FACS ou cytométrie en flux : Technique permettant de trier les cellules sur la base de caractères intrinsèques.

Immunité humorale : Immunité adaptative liée à la réponse immune due aux anticorps. Les lymphocytes B, après activation par un antigène, se transforment en plasmocytes produisant l'anticorps spécifique de l'antigène.

Lymphopoïèse B : Processus de différenciation des lymphocytes B à partir des CSH.

Mammosphères : Amas sphériques de cellules qui permet de maintenir en culture les CS du sein.

SP ou Side Population : Les CSC surexpriment des pompes transmembranaires qui permettent l'exclusion de diverses substances ayant pénétré dans la cellule. L'incubation de CSC avec des colorants vitaux permet de distinguer les CSC qui rejettent le colorant, population SP, des cellules différenciées qui conservent le colorant. La population SP peut alors être isolée par FACS. La population SP a des capacités d'auto-renouvellement et de différenciation, caractéristique propre des cellules souches.

RT-PCR ou reverse transcription-polymerase chain reaction : Technique moléculaire d'analyse des ARN. Elle permet, en utilisant des amorces spécifiques, de mesurer le niveau d'expression d'un ARN.

shRNA ou ARN interférent : Acide ribonucléique (ARN) simple ou double brin dont l'interférence avec un ARN messager conduit à la dégradation de ce dernier ou à une diminution de sa traduction en protéine.

TCDD : Molécule de la famille des dioxines (2,3,7,8-Tétrachlorodibenzo-p-dioxine) considérée comme carcinogène pour l'homme. Ligand de AHR.

Voie de signalisation WNT/β-caténine : Voie de signalisation qui permet le maintien, entre autre, de l'état indifférencié des cellules souches. Une protéine WNT se lie à un récepteur membranaire ce qui a pour effet de déplacer la β-caténine dans le noyau, où elle peut jouer son rôle de coactivateur de la transcription de certains gènes.

Voie de signalisation PTEN PI3K/AKT : PTEN est un régulateur négatif de la voie de signalisation PI3K/AKT. La perte de PTEN entraîne l'activation d'AKT qui induit la prolifération et permet la survie des cellules en inhibant l'apoptose.

Publications de référence

1 Dong Z, Liu Y, et al. Uncertainties in human health risk assessment of environmental contaminants: A review and perspective. *Environ Int.* 2015 Dec;85:120-32.

2 Chang ET, Boffetta P, et al. A critical review of the epidemiology of Agent Orange or 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin and lymphoid malignancies. *Ann Epidemiol.* 2015 Apr;25(4):275-292.

3 Floret N, Mauny F, et al. Dioxin emissions from a solid waste incinerator and risk of non-Hodgkin lymphoma. *Epidemiology.* 2003 Jul;14(4):392-8.

4 Viel JF, Floret N, et al. Increased risk of non-Hodgkin lymphoma and serum organochlorine concentrations among neighbors of a municipal solid waste incinerator. *Environ Int.* 2011 Feb;37(2):449-53.

5 Boitano AE, Wang J, et al. Aryl hydrocarbon receptor antagonists promote the expansion of human hematopoietic stem cells. *Science.* 2010 Sep 10;329(5997):1345-8.

6 Landi MT, Bertazzi PA, et al. TCDD-mediated alterations in the AhR-dependent pathway in Seveso, Italy, 20 years after the accident. *Carcinogenesis.* 2003 Apr;24(4):673-80.

7 Brantley E, Callero MA, et al. AhR ligand Aminoflavone inhibits α6-integrin expression and breast cancer sphere-initiating capacity. *Cancer Lett.* 2016 Jun 28;376(1):53-61.

8 Jung JW, Park SB, et al. Metformin represses self-renewal of the human breast carcinoma stem cells via inhibition of estrogen receptor-mediated OCT4 expression. *PLoS One.* 2011;6(11):e28068.

<https://www.anses.fr/fr/content/dioxines-et-aliments-lanses-fait-le-point>

Revue de la littérature

Tong Y, Niu M, et al. Aryl hydrocarbon receptor suppresses the osteogenesis of mesenchymal stem cells in collagen-induced arthritic mice through the inhibition of β-catenin. *Exp Cell Res.* 2017 Jan 15;350(2):349-357.

Bock KW. From dioxin toxicity to putative physiologic functions of the human Ah receptor in homeostasis of stem/progenitor cells. *Biochem Pharmacol.* 2017 Jan 1;123:1.

Ko CI, Fan Y, et al. Repression of the Aryl Hydrocarbon Receptor Is Required to Maintain Mitotic Progression and Prevent Loss of Pluripotency of Embryonic Stem Cells. *Stem Cells.* 2016 Dec;34(12):2825-2839.

Kovalova N, Nault R, et al. Comparative analysis of TCDD-induced AhR-mediated gene expression in human, mouse and rat primary B cells. *Toxicol Appl Pharmacol.* 2017 Feb 1;316:95-106.

Fracchiolla NS, et al. 2,3,7,8-Tetrachlorodibenzo-p-dioxin (TCDD) role in hematopoiesis and in hematologic diseases: A critical review. *Toxicology.* 2016 Dec 30;374:60-68.

Liens d'intérêts :

Les auteurs déclarent n'avoir aucun lien d'intérêt.

Les conséquences pathologiques de l'absorption excessive du fluor dépendent non seulement de la dose mais également du fonds génétique et du mode de vie

Sylvie BABAJKO | sylvie.babajko@crc.jussieu.fr

Inserm - Centre de recherche des Cordeliers - Paris

Mots clés : Fluor, fluoroses, polymorphisme génétique, récepteur aux oestrogènes

Le fluor est très largement utilisé depuis plusieurs décennies pour prévenir la carie (1, 2), notamment sous forme de sels fluorés dans les dentifrices (100 à 150 mg/g) ou les comprimés (0,5 mg/comprimé). Il forme une apatite* fluorée et rend ainsi cet émail plus résistant aux attaques acides. Cependant, les doses prophylactiques établies par l'OMS (0,05 mg/kg/jour) sont à peine deux fois plus faibles que les doses augmentant le risque de conséquences pathologiques (0,1 mg/kg/jour) (1). Or, l'anion fluorure est présent, parfois en grande quantité (> 1 mg/L) dans les eaux de boisson qu'elles soient naturelles (eaux souterraines notamment d'Afriques du nord), du robinet (Amérique du nord et Asie) ou en bouteilles (eaux minérales gazeuses). Certains aliments, tels que le thé, le poisson, les épinards ou les choux sont également riches en fluor.

Les conséquences pathologiques de l'absorption excessive de fluor sont multiples. Compte tenu de la forte affinité du fluor pour l'apatite, l'excès de fluor touche les tissus minéralisés, émail et os, en premier lieu. Ainsi, les fluoroses dentaires caractérisées par des lésions hypominéralisantes sont diagnostiquées chez l'enfant autour de huit ans (2,3). Elles ont été bien décrites et classifiées (2). Elles résultent d'une absorption excessive de fluor durant le développement dentaire c'est-à-dire du dernier trimestre de gestation jusqu'à cinq-six ans après la naissance) (2-4). Une dose plus élevée (> 2 mg/jour) augmente le risque de fluoroses osseuses (5) et de troubles endocriniens et de reproduction (6). Lorsque les doses absorbées sont très élevées, des toxicités neuronales, rénales, hépatiques et cardiaques ont été rapportées (7). Des études récentes rapportent une augmentation inexplicable de sensibilité au fluor suggérant que de faibles doses de fluor peuvent maintenant avoir des effets aussi importants que des doses plus élevées auparavant (8). Ainsi, l'incidence de fluoroses aux Etats-Unis demeure élevée malgré une diminution de la teneur en fluor dans l'eau de boisson (9). En ce sens, des données expérimentales et épidémiologiques rapportent que la susceptibilité au fluor dépend, en plus de la dose d'exposition, du sexe, du fonds génétique et du mode de vie (10-12). Les deux publications sélectionnées illustrent cela et vont dans le sens d'une susceptibilité individuelle au fluor. L'article de Zhou et al. montre la relation entre le polymorphisme* du gène codant pour le récepteur des œstrogènes α (ER α) et les perturbations de l'axe hypothalamo-hypophysaire-ovarien chez les femmes exposées au fluor dans la province chinoise de Henan. Quant à l'article de Jain, il s'agit de l'analyse des relevés des concentrations de fluor dans l'eau et dans le plasma de jeunes américains, pour la première fois disponible dans le domaine public, en relation avec l'âge, le sexe et le mode de vie des personnes participant à l'étude.

Fluorose endémique chez les femmes de la province chinoise de Henan : polymorphismes du gène codant ER α et taux d'hormones liées à la reproduction

Zhou GY. et al. (2016). Endemic fluorosis in Henan province, China: ER α gene polymorphisms and reproductive hormones among women. *Asia Pac J Clin Nutr.* Vol.25(4): p.911-19.

Résumé

L'originalité de cette étude est d'avoir recherché de possibles effets indésirables du fluor sur la production d'hormones liées à la reproduction chez les femmes. En effet, les données rapportées jusque-là avaient montré que le fluor pouvait réduire la fonction de reproduction en altérant la spermatogenèse mais peu de données avaient été rapportées pour les femmes. Pour cela, les auteurs ont

mené une étude sur 679 femmes sélectionnées au hasard entre 2010 et 2012, âgées de 18 à 48 ans. Ces femmes devaient être nées et/ou avoir vécu au moins cinq ans dans l'un des villages de la province chinoise de Henan. Ces femmes ont été réparties en trois groupes selon qu'elles venaient d'un village avec fluorose endémique sans programme de défluoruration de l'eau (A), avec défluoruration (B) ou d'un village sans problème de fluorose endémique considéré comme le groupe contrôle (C). Les auteurs de l'étude ont dosé le fluor dans les urines, et la gonadotropin releasing hormone (GnRH*), l'hormone folliculo-stimulante (FSH*), l'hormone lutéinisante (LH*), et l'œstradiol* (E2) dans les échantillons de sang. Ils ont recoupé ces taux avec les polymorphismes du gène ER α . Trois sites polymorphiques notés X/x (selon qu'ils possèdent un site consensus XbaI), P/p (selon qu'ils possèdent un site consensus PvuII), et C/T (rs3798577) ont retenu l'attention

des auteurs. Les résultats obtenus ont d'abord confirmé des taux urinaires de fluor plus élevés dans le groupe A que dans le groupe B, eux-mêmes plus élevés que ceux du groupe contrôle (C), reflétant bien le taux d'exposition au fluor. Dans le groupe C, aucune relation n'a pu être mise en évidence entre les formes alléliques du gène ER α et les taux hormonaux. Par contre dans le groupe A, les taux sériques de GnRH varient selon le polymorphisme P/p et étaient de l'ordre de 0,629 nmol/L pour les femmes portant des allèles PP et de 0,395 nmol/L pour celles avec les allèles pp ($p < 0,001$). En considérant uniquement ce site polymorphique, les auteurs ont montré un lien entre les taux de GnRH mais aussi d'E2 et le degré d'exposition au fluor. Ainsi les femmes pp du groupe A (les plus contaminées) présentaient des taux de GnRH de d'E2 significativement plus faibles que les femmes des deux autres groupes B et C. Aucune différence statistique n'a pu être retrouvée pour les femmes portant la forme allélique PP. De même, les femmes Xx ou T/T ont un taux d'hormones en GnRH et E2 diminuer en fonction de l'exposition au fluor comparativement aux XX ou C/C respectivement.

En conclusion, cette étude montre une diminution des taux sériques en GnRH et E2 chez les femmes exposées au fluor de façon chronique, et avec une susceptibilité dépendant du polymorphisme du gène ER α .

Commentaire

Cette étude montre que tous les individus ne sont pas égaux face à l'exposition au fluor, et que la susceptibilité des individus dépend du fond génétique. Les femmes présentant des formes particulières du gène ER α sont plus susceptibles de développer des troubles endocriniens lorsqu'elles subissent une exposition chronique au fluor pendant plusieurs années. Cette publication relate l'étude complète dont des données préliminaires ont été publiées par ce même groupe en 2015 suspectant une altération de production de GnRH chez les femmes exposées au fluor et présentant un polymorphisme particulier du gène codant le récepteur à la FSH (13). Ces résultats, de même que ceux publiés auparavant chez l'homme (14) montrent les effets du fluor sur les axes endocrines liés à la gamétogenèse et la reproduction. Dans leur étude publiée en 2016, les auteurs avaient montré une diminution des taux de testostérone chez les fermiers de la même province chinoise exposés au fluor. Cette équipe aborde aussi la notion de l'âge dans la susceptibilité au fluor (14) montrant que les hommes jeunes sont plus susceptibles au fluor que les personnes âgées avec des taux de testostérone plus fortement diminués. Cette notion de l'âge est un des points développés dans la deuxième publication sélectionnée.

Concentrations de fluor dans l'eau et dans le plasma d'enfants et d'adolescents aux États-Unis : données du NHANES recueillies entre 2013 et 2014

Jain RB. (2017). Concentrations of fluoride in water and plasma for US children and adolescents: Data from NHANES 2013-2014. Environ Toxicol Pharmacol. Vol.50: p.20-31.

Résumé

Cet article présente l'analyse de données sur les concentrations en fluor dans l'eau de boisson et dans le plasma d'enfants et adolescents aux États-Unis, collectées entre 2013 et 2014, et disponibles pour la première fois dans le domaine public. Le but de ce travail est de rechercher une relation entre ces concentrations en fluor et l'âge, le sexe, l'origine ethnique, la prise de complément fluoré et le tabagisme. Les données ont été collectées à partir de cinq groupes d'enfants (de 713 à 1391 enfants par groupe) répartis selon l'âge et analysées grâce au logiciel SAS de l'université d'Edison.

Les concentrations en fluor dans l'eau sont plus faibles chez les enfants âgés de trois à cinq ans que chez ceux de 6-11 ans ($p=0,02$), plus faibles chez les enfants asiatiques que chez les hispaniques ou les afro-américains ($p=0,04$) et plus faibles chez les enfants prenant des comprimés de fluor (dans le groupe des 12-19 ans) ($p=0,04$). Les concentrations ajustées plasmatiques de fluor sont plus faibles chez les filles que chez les garçons ($p<0,01$), plus faibles chez les hispaniques que les caucasiens ($p<0,01$) et plus faibles chez les enfants ayant reçu un complément en fluor ($p=0,03$). Les adolescents fumeurs présentent des taux plasmatiques de fluor plus élevés que les non-fumeurs ($p = 0,03$). Dans les conditions actuelles, plus de 60 % des jeunes américains (6-19 ans) risquent de développer des caries et 30 % une fluorose dentaire.

Commentaire

Cette analyse montre qu'à exposition égale au fluor, les concentrations plasmatiques peuvent varier avec l'âge, le sexe l'origine ethnique et le mode de vie, ici le tabac. Elle suggère une susceptibilité à cet agent. Les auteurs de cette analyse rapportent leurs données sans les discuter et sans les relier au développement de caries ou aux fluoroses. Sur la base de nombreuses études menées depuis les années 70, une concentration de 0,7 ml/L de fluor dans l'eau du robinet est considérée comme optimale aux États-Unis pour prévenir la carie, justifiant ainsi une fluoruration de l'eau. En effet, la carie est la pathologie secondaire (non mortelle) la plus répandue dans le monde car 100 % de la population mondiale a eu, a ou aura au moins une carie dans sa vie (15). Or la carie est directement liée à une altération de la qualité de vie et de nutrition. C'est pourquoi la santé dentaire est un enjeu de santé publique majeur. Ainsi, malgré la fluoruration de l'eau, le risque carieux demeure encore élevé aux États-Unis et ailleurs, alors que le risque de fluorose, considéré comme moins grave, est élevé également. De nombreuses analyses récentes posent la question de la nécessité de fluoruration de l'eau et du réel bénéfice du fluor (16). Le mode de vie et notamment les habitudes alimentaires ayant considérablement évolués depuis les premières études épidémiologiques préconisant le fluor comme agent de prévention, il est maintenant nécessaire d'en mener de nouvelles en intégrant ces paramètres.

CONCLUSION GÉNÉRALE

Le fluor présente des propriétés physico-chimiques uniques exploitées par l'industrie, notamment pharmaceutique. Il est largement présent dans notre environnement et préconisé pour prévenir la carie. Néanmoins, de nombreuses études récentes soulèvent la question de la susceptibilité individuelle au fluor et au développement carieux liée à des paramètres innés (génétiques) et/ou acquis (mode de vie, alimentation, tabac, etc...), et par là-même le bienfondé d'un traitement général tel que la fluoruration de l'eau du robinet pour prévenir la carie. En effet, les doses prophylactiques sont à peine deux fois plus faibles que des doses potentiellement toxiques, augmentant le risque d'altération de la qualité amélaire* et osseuse (fluoroses), de la gamétogenèse et donc de la reproduction.

GENERAL CONCLUSION

Fluoride exhibits unique physicochemical properties exploited by industries, especially the pharmaceutical industry. It is thus widely present in our environment and used to prevent caries. Nevertheless, many recent studies raise the issue of individual susceptibility to fluoride and carious development linked to innate (genetic) and / or acquired factors (lifestyle, food, tobacco, etc...), and hence the justification of a general approach such as fluoridation of tap water to prevent caries. Indeed, the prophylactic doses are close to, only twice lower than the doses potentially toxic that increase the risk of alteration of enamel and bone quality (fluoroses), and of the gametogenesis disruption therefore reproduction disorders. Large-scale epidemiological studies are now needed to (re)define the fluoride benefit / risk ratio, taking into account genetic parameters (17-19), new environmental conditions (potential synergistic effects between fluoride and other pollutants) (20), occupation and current lifestyle.

Lexique

Amélaire : Qui se rapporte à l'émail de la couronne d'une dent.

Apatite (ou hydroxyapatite) : Constituant majoritaire (97%) de l'émail dentaire, de formule $\text{Ca}_5(\text{PO}_4)_3(\text{OH})$. L'anion fluor peut remplacer le groupe hydroxyle (OH) pour former la fluorapatite ($\text{Ca}_5(\text{PO}_4)_3(\text{F})$) plus résistante.

GnRH: Hormone synthétisée par l'hypothalamus qui induit la libération des gonadotrophines hypophysaires FSH et surtout LH. C'est pourquoi on la nomme aussi LH-RH (Luteinizing hormone Releasing Hormone).

FSH (hormone folliculo-stimulante) : Glycoprotéine synthétisée par l'hypophyse et qui contrôle l'activité ovarienne.

LH (hormone lutéinisante) : Glycoprotéine synthétisée par l'hypophyse qui stimule la sécrétion de progestérone et d'œstrogènes par le corps jaune. Elle tient un rôle clé dans le cycle ovarien. Chez l'homme, elle stimule la production de testostérone.

Œstradiol: Hormone féminine de la famille des œstrogènes
Polymorphisme: Coexistence de plusieurs allèles d'un gène donné. Le polymorphisme correspond aux variations de la séquence nucléotidique de l'ADN d'un gène dans une population. Un gène est dit polymorphe s'il existe au moins deux formes alléliques à une fréquence supérieure à 1 %.

Références

- 1 Clark MB, Slayton RL; Section on Oral Health. Fluoride use in caries prevention in the primary care setting. *Pediatrics*. 2014;134(3):626-33.
- 2 Dean HT. Fluorine in the control of dental caries. *J Am Dent Assoc*. 1956;52(1):1-8.
- 3 Fejerskov O, Larsen MJ, Richards A, Baelum V. Dental tissue effects of fluoride. *Adv Dent Res*. 1994;8(1):15-31.
- 4 Denbesten P, Li W. Chronic fluoride toxicity: dental fluorosis. *Monogr Oral Sci*. 2011;22:81-96.
- 5 Chachra D, Vieira AP, Grynpas MD. Fluoride and mineralized tissues. *Crit Rev Biomed Eng*. 2008;36(2-3):183-223.
- 6 Ortiz-Perez D, Rodríguez-Martínez M, Martínez F, Borja-Aburto VH, Castelo J, Grimaldo JJ, de la Cruz E, Carrizales L, Díaz-Barriga F. Fluoride-induced disruption of reproductive hormones in men. *Environment Res*. 2003;96(1):20-30.
- 7 Perumal E, Paul V, Govindarajan V, Panneerselvam L. A brief review on experimental fluorosis. *Toxicol Lett*. 2013;223(2):236-51.
- 8 Khan A, Moola MH, Cleaton-Jones P. Global trends in dental fluorosis from 1980 to 2000: a systematic review. *J Afric dent Assoc*. 2005;60(10):418-21.
- 9 Beltran-Aguilar ED, Barker L, Dye BA. Prevalence and severity of dental fluorosis in the United States, 1999-2004. *NCHS data brief*. 2010;53:1-8.
- 10 Kobayashi CA, Leite AL, Peres-Buzalaf C, Carvalho JG, Whitford GM, Everett ET, Siqueira WL, Buzalaf MA. Bone response to fluoride exposure is influenced by genetics. *PLoS One*. 2014;9(12):e114343.
- 11 Everett ET. Fluoride's effects on the formation of teeth and bones, and the influence of genetics. *J Dent Res*. 2011;90(5):552-60.
- 12 Liu G, Ye Q, Chen W, Zhao Z, Li L, Lin P. Study of the relationship between the lifestyle of residents residing in fluorosis endemic areas and adult skeletal fluorosis. *Environ Toxicol Pharmacol*. 2015;40(1):326-32.

Publications de référence

- 13 Zhao MX, Zhou GY, Zhu JY, Gong B, Hou JX, Zhou T, Duan LJ, Ding Z, Cui LX, Ba Y. Fluoride Exposure, Follicle Stimulating Hormone Receptor Gene Polymorphism and Hypothalamus-pituitary-ovarian Axis Hormones in Chinese Women. *Biomed Environ Sci*. 2015;28(9):696-700.
- 14 Duan L, Zhu J, Wang K, Zhou G, Yang Y, Cui L, Huang H, Cheng X, Ba Y. Does Fluoride Affect Serum Testosterone and Androgen Binding Protein with Age-Specificity? A Population-Based Cross-Sectional Study in Chinese Male Farmers. *Biol Trace Elem Res*. 2016;174(2):294-299.

15 Vos T, Flaxman AD, Naghavi M, et al. Years lived with disability (YLDs) for 1160 sequelae of 289 diseases and injuries 1990-2010: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2010. *Lancet.* 2012;380 (9859):2163-96.

16 Sicca C, Bobbio E, Quartuccio N, Nicolò G, Cistaro A. Prevention of dental caries: A review of effective treatments. *J Clin Exp Dent.* 2016;8 (5):e604-e610.

Revues de la littérature

17 Yang D, Liu Y, Chu Y, Yang Q, Jiang W, Chen F, Li D, Qin M, Sun D, Yang Y, Gao Y. Association between vitamin D receptor gene FokI polymorphism and skeletal fluorosis of the brick-tea type fluorosis: a cross sectional, cause control study. *BMJ Open.* 2016;6 (11):e011980.

18 Pei J, Li B, Liu Y, Liu X, Li M, Chu Y, Yang Q, Jiang W, Chen F, Darko GM, Yang Y, Gao Y. Matrix Metalloproteinase-2 Gene rs2287074 Polymorphism is Associated with Brick Tea Skeletal Fluorosis in Tibetans and Kazaks, China. *Sci Rep.* 2017;7:40086.

19 Li BY, Yang YM, Liu Y, Sun J, Ye Y, Liu XN, Liu HX, Sun ZQ, Li M, Cui J, Sun DJ, Gao YH. Prolactin rs1341239 T allele may have protective role against the brick tea type skeletal fluorosis. *PLoS One.* 2017;12 (2):e0171011.

20 Wasana HM, Perera GD, Gunawardena PS, Fernando PS, Bandara J. WHO water quality standards Vs Synergic effect(s) of fluoride, heavy metals and hardness in drinking water on kidney tissues. *Sci Rep.* 2017;7:42516.

21 Patel PP, Patel PA, Zulf MM, Yagnik B, Kajale N, Mandlik R, Khadilkar V, Chiplonkar SA, Phanse S, Patwardhan V, Joshi P, Patel A, Khadilkar AV. Association of dental and skeletal fluorosis with calcium intake and serum vitamin D concentration in adolescents from a region endemic for fluorosis. *Indian J Endocrinol Metab.* 2017;21 (1):190-195.

Liens d'intérêts :

Les auteurs déclarent n'avoir aucun lien d'intérêt.

anses

agence nationale de sécurité sanitaire
alimentation, environnement, travail



Connaître, évaluer, protéger

Bulletin de veille BVS scientifique

Édition scientifique • Bulletin de veille n° 33 • Avril 2018
Notes d'actualité scientifique

Agents biologiques

Contribution des bactériophages à la dissémination des gènes de résistance aux antibiotiques dans l'environnement

Michel GAUTIER | michel.gautier@agrocampus-ouest.fr

Agrocampus Ouest-Inra - UMR STLO - Rennes

Mots clés : ARG, bactériophage, gène de résistance aux antibiotiques, transferts horizontaux

Les bactériophages sont probablement les microorganismes les plus abondants sur la terre : on estime leur nombre à 10^{31} , soit dix fois plus que le nombre de bactéries. Jusqu'à une date très récente, les études de métagénomique*, visant à évaluer la biodiversité des écosystèmes microbiens complexes, ne les prenaient pas spécifiquement en compte. Compte tenu de l'omniprésence des phages et de leurs relations étroites avec les bactéries, il était important de connaître leur contribution à la diffusion de ces gènes. Les trois publications analysées ici visent à évaluer le type et la fréquence des gènes codant des résistances aux antibiotiques dans des populations phagiques issues de diverses niches écologiques. La première publication met toutefois l'accent sur la méthodologie qui doit être mise en oeuvre pour l'obtention de résultats fiables. Ces travaux permettent aussi d'avancer des hypothèses quant au rôle des bactériophages dans la diffusion de ces résistances.

Les bactériophages codent rarement des gènes de résistances aux antibiotiques : un appel à la prudence pour l'analyse des viromes

Enault F. et al. (2017). Phages rarely encode antibiotic resistance genes: a cautionary tale for virome analyses. ISME J. vol.11(1): p.237-247

Résumé

L'objectif d'une partie de ce travail a été d'évaluer la part des gènes de résistance aux antibiotiques (ARGs*) portée par les génomes des bactériophages. Les génomes de 1181 phages d'origine très diverse, séquencés et publiés, ont été analysés. En utilisant les seuils de similarité* utilisés habituellement pour ce type d'expérimentation, plus de 400 gènes de résistance putatifs ont ainsi été mis en évidence. Afin d'éliminer ceux qui ne codaient pas des résistances mais qui présentaient simplement une homologie avec ceux-ci, les auteurs ont utilisé des seuils de similarité de plus en plus stricts pour n'aboutir au final qu'à quatre gènes de résistance putatifs*. Afin de vérifier la fonction de ces gènes, ceux-ci ont été clonés chez *E. coli* : il s'est avéré qu'ils ne conféraient pas de résistance aux antibiotiques à cette bactérie et codaient fort probablement pour des protéines de la queue des phages. Ensuite, en utilisant le seuil de similarité le plus sévère défini précédemment, 25 viromes* de différentes origines (fèces humain, fèces de souris avant et après traitement aux antibiotiques, poumons de patients atteints ou non de la mucoviscidose) ont été analysés. Dans la plupart des viromes, la fréquence des gènes de résistance aux antibiotiques ne s'est pas révélée différente de celle obtenus sur les 1181 phages. Elle était cependant d'autant plus élevée que les viromes étaient contaminés par de

l'ADN bactérien. Ce travail démontre que, d'une part les bactériophages portent très rarement sur leurs génomes des gènes de résistance aux antibiotiques et que, d'autre part, les gènes de résistance aux antibiotiques identifiés dans les viromes proviennent probablement d'ADN bactérien véhiculé par transduction généralisée*.

Commentaire

Lors de l'infection bactérienne, certains bactériophages sont capables de transférer à la cellule infectée, des gènes bactériens intégrés sur leur génome (par capture* de gène ou par transduction spécialisée*) ou des gènes uniquement bactériens, encapsidés* par erreur dans la tête du phage (transduction généralisée*). Dans ce deuxième cas, la fréquence de transfert est plus faible que dans le premier, car seule une très faible fraction des particules de la population phagique est concernée (1). Des travaux antérieurs basés sur l'analyse des viromes suggéraient que l'intégration des gènes de résistance aux antibiotiques sur le génome des phages est relativement fréquente (2-3) : une telle hypothèse suggérait un rôle important des phages dans la dissémination des ARGs. Or, les travaux décrits ici démontrent le contraire. La solidité de ce travail repose, d'une part sur le choix de bases de données pertinentes car elles recensent les gènes de résistance aux antibiotiques bien annotés et identifiés et d'autre part en prenant en compte un seuil de similarité élevé. Cette méthodologie conduit à éliminer de nombreux gènes présentant une forte similarité aux ARGs sans pour cela conférer de résistance. Il met ainsi les lecteurs en garde sur les travaux visant à évaluer, par les méthodes de métagénomique*, la présence des ARGs dans l'environnement, qu'ils soient d'ailleurs d'origine phagique ou bactérienne : les cribles de sélection de gènes doivent être analysés et critiqués.

Avancées sur la contribution des bactériophages à la résistance bactérienne aux antibiotiques

Lekunberri I. et al. (2017). Exploring the contribution of bacteriophages to antibiotic resistance. *Environmental pollution*, vol. 220: p.981-984

Résumé

Ce travail a visé à évaluer la présence de gènes de résistance aux antibiotiques dans 33 viromes provenant d'environnements variés : selles humaines, fèces de porc, eaux usées, eaux douces et eaux de mer. Les séquences de ces viromes ont été comparées à plusieurs banques de données de manière à identifier des gènes de résistance aux antibiotiques. Les résultats montrent que les bactériophages provenant de selles humaines sont peu porteurs de gènes de résistance (0,003% des séquences) tandis que ceux provenant de fèces de porcs l'étaient beaucoup plus (de 0,04% à 0,45%). Les échantillons fécaux de porc sont aussi ceux où les viromes ont conservé une plus grande quantité d'ADN bactérien, ce qui suggère une forte fréquence de transduction généralisée (ou de contamination de l'échantillon par de l'ADN exogène). Les viromes provenant des eaux usées et de l'eau douce étaient caractérisés par la plus grande diversité des ARGs et une quantité nettement plus élevée de ces gènes que dans les viromes provenant des selles humaines. Enfin, l'assemblage des contigs* a permis de démontrer que deux gènes de résistance étaient probablement intégrés dans le génome de deux phages.

Commentaire

Les résultats obtenus sont intéressants car ils montrent que certains milieux écologiques (ici les fèces de porc) dont on présume qu'ils sont en contact avec des antibiotiques, contiennent des bactériophages portant des ARGs : ces gènes sont ensuite véhiculés par l'eau puisqu'on les trouve ici dans les eaux usées, l'eau douce et l'eau de mer. Des travaux antérieurs de cette équipe ont montré aussi une forte prévalence de ces gènes dans des bactériophages issus d'eaux usées provenant d'hôpitaux (4-5). Le choix des bases de données ainsi que le seuil de similarité pour la détection de ces gènes sont pertinents. D'ailleurs, ces travaux confortent aussi ceux de Esnault *et al* (publication n°1) qui ont montré dans les selles humaines, un pourcentage similaire d'ARGs véhiculés par les phages, ainsi qu'une faible prévalence de ces gènes. Deux gènes de résistance, intégrés par capture, ont été mis en évidence dans deux génomes phagiques mais il est fort probable que ces phages portant ces gènes soient défectifs*. Ces travaux apportent des éléments à la compréhension de la diffusion horizontale des ARGs dans des niches écologiques microbiennes complexes. Ils mettent notamment en exergue le fait que si la transduction généralisée est connue depuis longtemps, son importance dans les transferts horizontaux des gènes bactériens a été jusqu'à présent sous-estimée.

Abondance des gènes de résistance aux antibiotiques dans les bactériophages de l'environnement

Anand T. et al. (2016). Abundance of antibiotic resistance genes in environmental bacteriophages. *Journal of General virology*, vol.97: p.3458-3466

Résumé

Le but de ce travail était de rechercher par PCR* des ARGs dans des bactériophages amplifiés *in vitro* et initialement isolés à partir de l'environnement de plusieurs élevages, intensifs ou non : eaux usées, fumiers, litières, eaux de rivière. A partir de ces échantillons, des isolats bactériens cultivables ont également été obtenus, puis identifiés. Des bactériophages actifs sur ces souches, mais aussi sur d'autres souches provenant d'une collection d'origine vétérinaire (NCCTCC*) ont ainsi pu être recherchés et amplifiés dans ces mêmes prélèvements. Au final, 55 bactériophages actifs sur 17 genres bactériens ont pu ainsi être isolés, amplifiés, purifiés et étudiés. Quatre gènes de résistance aux antibiotiques (*bla*_{TEM}, *bla*_{OXA-2}, *tetA* et *tetW*) ainsi que trois gènes codant des intégrases* (*int1*, *int2* et *int3*) ont été recherchés par PCR sur l'ADN extrait de chaque phage. La présence de ces deux catégories de gènes a été constatée dans 61,8 % de ces ADN phagiques. *bla*_{TEM} (17/55) et *int1* (6/55) étaient les gènes les plus rencontrés et prédominaient dans les phages provenant d'élevages intensifs, notamment dans les sols, les eaux usées et les litières. *TetA*, le second gène de résistance le plus souvent rencontré (7/55), était prédominant dans les eaux.

Les phages provenant d'élevages intensifs présentaient une plus grande diversité de gènes de résistance que ceux provenant d'élevages moins intensifs. Ces travaux montrent l'importance de la transmission des résistances aux antibiotiques via la transduction généralisée. Les auteurs précisent que, bien que leurs résultats ne permettent pas de déterminer si les gènes sont portés par le génome des phages ou sont seulement véhiculés par transduction généralisée, cette dernière voie leur semble plus probable.

Commentaire

La majorité des travaux récents visant à évaluer le portage de gènes de résistance aux antibiotiques par les bactériophages, repose essentiellement sur la recherche de ces gènes dans des communautés microbiennes dont on a extrait l'ADN phagique total (virome) (6). Les principales faiblesses de cette méthode sont la possible contamination par de l'ADN bactérien (libre ou encapsidé par les phages), la difficulté à attribuer à un bactériophage donné une ou plusieurs résistances ainsi que la surestimation du nombre de ARGs (publication n°1). Ici, pour éviter une partie de ces écueils, les auteurs ont adopté une autre démarche puisqu'ils ont recherché ces gènes dans des particules phagiques amplifiées puis purifiées provenant de divers prélèvements et actifs en partie, sur des bactéries issues de ces prélèvements. L'approche par PCR permet d'accéder à une profondeur d'analyse inégalée dans les analyses de viromes, et de déceler les particules transductrices sous-dominantes, produites par un phage donné. De plus, afin

d'éviter les erreurs de détection dues à l'utilisation de bases de données exhaustives mais peu précises et ciblant la majorité des gènes de résistance connus, ils ont choisi délibérément de se focaliser sur certains gènes de résistance pertinents et bien caractérisés: les résistances aux beta-lactamines et aux tétracyclines. Pour estimer la possibilité qu'auraient ces gènes de résistance, véhiculés par transduction généralisée, d'être transférés à d'autres bactéries, ils ont aussi recherché les gènes codant les intégrases bactériennes les plus répandues. Une approche par qPCR* aurait cependant permis d'accéder à une évaluation quantitative de la contribution des bactériophages à la diffusion de gènes de résistance.

CONCLUSION GÉNÉRALE

Ces travaux montrent que la fréquence des ARGs intégrés sur les génomes phagiques est très faible et que, par conséquent, la transduction spécialisée et la capture de gènes sont fort probablement peu impliquées dans les transferts horizontaux de ces résistances. En revanche, ils montrent que la transduction généralisée n'est pas à négliger. Cette constatation est très importante car, en ce qui concerne le maintien et la propagation à la descendance des ARGs transférés dans la cellule bactérienne, ce mécanisme est probablement le moins performant : en effet il nécessite que la particule virale portant la même spécificité que le phage originel trouve une bactérie permissive (fixation virale et injection de l'ARGs), qu'une intégration de l'ARGs dans le génome bactérien puisse se réaliser (recombinaison homologue, intégrons) et enfin que la bactérie receveuse de ce transfert génétique ne soit pas lysée par d'autres phages lytiques environnants (notamment les particules virales fonctionnelles). Ces travaux montrent aussi que les méthodes de criblage utilisées pour la détection des gènes de résistances aux antibiotiques dans des écosystèmes complexes peuvent engendrer de nombreux faux positifs. Les bases de données utilisées et les seuils d'homologie employés pour les exploiter sont des paramètres essentiels à la validité de cette détection. Quoiqu'il en soit, les résultats analysés ici vont dans le sens de nombreux autres montrant que les ARGs sont plus fréquemment rencontrés dans les milieux contaminés par les antibiotiques. Si les mécanismes d'acquisition horizontale d'ADN par les bactéries sont connus depuis longtemps, leur fréquence et leur part relative dans les niches écologiques complexes est plus difficile à évaluer. Bien qu'il soit depuis longtemps connu que les phages participent à l'évolution des bactéries, la part liée à la transduction (qu'elle soit généralisée ou spécialisée) et à la capture de gène est peu renseignée. L'utilisation potentielle à grande échelle des bactériophages pour lutter contre les bactéries pathogènes, que ce soit en usage vétérinaire, en médecine humaine ou en industrie agroalimentaire, impose de mieux connaître les risques liés aux transferts génétiques horizontaux impliquant ces microorganismes. Enfin, d'un point de vue plus global, les mécanismes de transfert horizontal d'ADN se produisant dans les niches écologiques complexes, méritent d'être plus investigués, notamment pour une meilleure maîtrise du risque de dissémination de l'ADN provenant des organismes génétiquement modifiés.

GENERAL CONCLUSION

These works show that the frequency of integration of antibiotic resistant genes (ARGs) inside the genome of phages is probably very low. Specialized transduction and gene capture are probably not involved in the horizontal transfer of these resistances. On the other hand, they show that generalized transduction should not be overlooked. This observation is very important because, with regard to the maintenance of ARGs transferred to the bacterial cell, this mechanism is probably the least efficient: it requires the presence of genetic elements associated with the ARGs (homologous genes or integrons) allowing the insertion into the bacterial genome. These works also show that the screening methods used for the detection of ARGs in bacterial ecosystems can generate many false positives. The choice of the databases and the homology thresholds used to exploit these databases are essential parameters for the validity of this detection. Nevertheless, the results analyzed here are in agreement with many others showing that ARGs are more commonly encountered in antibiotic-contaminated environments. Although the mechanisms of acquisition of horizontal DNA by bacteria have been known for a long time, their frequency and relative share in the bacterial ecological niches, where these bacteria evolve, is more difficult to assess. Although it has long been known that phages are involved in the evolution of bacteria, the share of transduction (generalized or specialized) and gene capture are poorly documented. The potential large-scale use of bacteriophages to control pathogenic bacteria, in veterinary and human therapy or in the agro-food industry, requires a better understanding of the risks associated with horizontal genetic transfers involving these microorganisms. Finally, from a more general point of view, the mechanisms of horizontal transfer of DNA occurring in complex ecological niches must be investigated, in order to help better controlling the risk of dissemination of DNA from genetically modified organisms.

Lexique

Antibiotic Résistance Gene (ARG) : Gène codant une résistance aux antibiotiques.

Bactériophage ou phage : Virus infectant les bactéries, en général à ADN double brin, possédant une queue, une tête allongée ou isométrique.

Capture de gène : Il arrive que l'ADN phagique se recombine avec des séquences homologues présentes sur le chromosome bactérien (des séquences issues de prophages proches le plus souvent). Si ces séquences homologues encadrent un ou plusieurs gènes bactériens, ceux-ci seront intégrés lors de la recombinaison sur l'ADN du phage : on parle alors de capture de gène(s) par les phages.

Contigs : Séquence génomique générée par l'assemblage de plusieurs fragments séquencés qui se chevauchent.

Défectif : Se dit d'un bactériophage qui a perdu certaines fonctions et qui a besoin de celles d'un autre phage pour se multiplier.

Encapsidé : État de l'ADN (phagique ou bactérien) lorsqu'il est emballé dans la tête (ou capsid) du phage

Intégrase (bactérienne) : Enzyme qui intervient dans l'insertion et l'excision des intégrons. Ceux-ci sont des éléments génétiques bactériens, qui permettent la capture, l'expression et la dissémination de gènes. Ils sont notamment impliqués dans la multi-résistance des bactéries aux antibiotiques.

Métagénomique : Étude globale de la séquence des gènes d'un écosystème.

NCCTCC : National Center for Veterinary Type Culture Collection.

PCR : Technique permettant d'amplifier un segment d'ADN de manière à pouvoir le détecter.

PCRq : Technique permettant d'amplifier un segment d'ADN de manière à pouvoir le détecter et le quantifier.

Phagothérapie : Utilisation des bactériophages pour tuer spécifiquement un ensemble de souches appartenant à une espèce bactérienne ciblée.

Putatif (gène) : Les gènes putatifs sont des séquences d'ADN considérées comme étant des gènes, mais dont on ne connaît ni la fonction, ni le produit.

Seuil de similarité : Niveau de similarité utilisé lors de l'analyse des séquences pour détecter des ressemblances probantes entre deux gènes.

Transduction spécialisée : Certains phages s'intègrent au génome bactérien et y demeurent à l'état silencieux. Pour se répliquer, leur génome s'excise du génome bactérien. Un fragment du génome de la bactérie peut être embarqué, soit un ou plusieurs gènes.

Transduction généralisée : Capacité de certains phages à emballer aléatoirement, à la place de leur propre ADN, des fragments d'ADN bactérien puis de les délivrer par la suite à des bactéries permissives. Dans ce cas, la répliquon du phage n'est plus possible, car son génome n'est plus présent.

Transferts génétiques horizontaux : Transferts génétiques se produisant entre plusieurs individus (ici des bactéries) différents. Il s'agit de la conjugaison bactérienne, la transformation et la transduction (spécialisée ou généralisée).

Virome : Ensemble des génomes viraux provenant d'une niche écologique spécifique.

Publications de référence

1 Volkova VV, Lu Z, Besser T, Grohn YT. Modeling the infection dynamics of bacteriophages in enteric *Escherichia coli*: estimating the contribution of transduction to antimicrobial gene spread. *Appl Environ Microbiol* 2014; (80): 4350–4362.

2 Modi SR, Lee HH, Spina CS, Collins JJ. Antibiotic treatment expands the resistance reservoir and ecological network of the phage metagenome. *Nature* 2013; (499): 219–222.

3 Rolain JM, Fancello L, Desnues C, Raoult D. Bacteriophages as vehicles of the resistome in cystic fibrosis. *J Antimicrob Chemother* 2011; (66): 2444–2447.

4 Subirats, J., Sanchez-Melsio, A., Borrego, C.M., Balcazar, J.L., Simonet, P., Metagenomic analysis reveals that bacteriophages are reservoirs of antibiotic resistance genes. *Int. J. Antimicrob. Agents* 2016; (48), 163-167

5 Marti, E., Variatza, E. & Balcazar, J. L. Bacteriophages as a reservoir of extended-spectrum b-lactamase and fluoroquinolone resistance genes in the environment. *Clin Microbiol Infect* 2014; (20): 456–459

6 Calero-Caceres, W. & Muniesa, M. Persistence of naturally occurring antibiotic resistance genes in the bacteria and bacteriophage fractions of wastewater. *Water Res* 2016; (95):11–18

Revues de la littérature

Dos Santos DF, Istvan P, Quirino BF, Kruger RH. Functional Metagenomics as a Tool for Identification of New Antibiotic Resistance Genes from Natural Environments. *Microb Ecol.* 2017 73(2):479-491.

Koonin EV. Horizontal gene transfer: essentiality and evolvability in prokaryotes, and roles in evolutionary transitions. *F1000Res.* 2016; 25;5.

Luby E, Ibekwe AM, Zilles J, Pruden A. Molecular Methods for Assessment of Antibiotic Resistance in Agricultural Ecosystems: Prospects and Challenges. *J Environ Qual.* 2016 45 (2):441-53.

Pamar KM, hathi ZJ, Dafale NA. Control of multidrug-resistant gene flow in the environment through bacteriophage intervention. *Appl. Biochem. Biotechnol.* 2017; (181): 1007–1029

Von Wintersdorff CJ, Penders J, van Niekerk JM, Mills ND, Majumder S, van Alphen LB, Savelkoul PH, Wolffs PF. Dissemination of Antimicrobial Resistance in Microbial Ecosystems through Horizontal Gene Transfer. *Front Microbiol.* 2016;19;7:173.

Liens d'intérêts :

Les auteurs déclarent n'avoir aucun lien d'intérêt.

Caractérisation de l'exposition aux agents biologiques et chimiques et effets sur la santé dans les filières de la valorisation des déchets organiques

Anne OPPLIGER et Julia KRÄMER | Anne.Oppliger@hospvdd.ch

Université de Lausanne - Institut universitaire romand de santé au travail - Epalinges-Lausanne - Suisse

Mots clés : bioaérosols, biofuel, centrale à bio-masse, endotoxines, plateforme de compostage

Depuis une dizaine d'années, les filières de recyclage et de valorisation des déchets sont en plein essor et le nombre de travailleurs de ce secteur augmente de jour en jour. En France, la loi sur la transition énergétique fixe un objectif de valorisation des matières organiques de 55% massique en 2020 et de 65% en 2025. La valorisation de ces déchets organiques peut se faire en les utilisant comme source d'énergie renouvelable pour générer de la chaleur ou de l'électricité (avec une production de digestat épandable dans le cas de la méthanisation) ou en les compostant pour les utiliser en amendement* agricole. Généralement, les sous-produits de l'industrie du bois (souche, écorce, copeaux, sciure) ainsi que la tourbe et les boues séchées sont utilisés comme combustibles dans des centrales à biomasse* alors que les déchets de cuisine et de jardins privés sont compostés ou méthanisés. La matière organique, quelle que soit sa provenance, est toujours une source de prolifération pour les microorganismes qui sont facilement mis en suspension dans l'air lors de la manipulation de cette matière. Les bioaérosols* ainsi émis peuvent engendrer des problèmes respiratoires lorsqu'ils sont inhalés (1). En 2013, un projet financé par l'Anses et l'ADEME avait étudié la dispersion de certains micro-organismes issus de ces bioaérosols dans l'environnement direct d'un site de compostage (BIODISPAIR, (2)). L'évaluation des risques liés à l'exposition professionnelle aux bioaérosols et aux agents chimiques dans ces filières de valorisation des déchets organiques n'est pas systématique et est difficile à faire (3). En effet, en raison de la complexité des substances présentes, et du manque de standardisation des méthodes de prélèvements et d'analyses, les expositions aux agents biologiques sont souvent mal caractérisées. De plus, en raison du jeune âge de ces filières, les études épidémiologiques sont inexistantes. Les deux études présentées ici vont, en partie, pallier ce manque. La première étude (Laitinen et al. 2016) a mesuré l'exposition aux agents biologiques et chimiques dans des centrales à biomasse et la seconde (Van Kampen et al. 2017) a suivi sur le long terme la santé respiratoire de travailleurs sur des sites de compostage.

Exposition aux agents biologiques et chimiques dans les centrales à biomasse

Laitinen S. et al.(2016).Exposure to biological and chemical agents at biomass power plants. Biomass Bioenergy, vol.93: p.78-86.

Résumé

Cette étude menée en Finlande de 2012 à 2013 visait la mesure de l'exposition professionnelle aux bioaérosols lors de différentes tâches dans trois différentes centrales à biomasse produisant à la fois de la chaleur et de l'électricité. Les matières combustibles utilisées étaient variées (copeaux de bois, sciure, écorce, souche, tourbe, boue séchée et combustible solide de récupération (CSR)). L'exposition à la poussière organique ainsi qu'au monoxyde et dioxyde de carbone et d'azote (CO, CO₂, NO, NO₂), ammoniac, et sulfure d'hydrogène a aussi été mesurée à l'aide d'appareils à lecture directe. De plus, les composés organiques volatiles (COV) ont été analysés par chromatographie en phase gazeuse. Pour les bioaérosols, les bactéries et champignons ont été échantillonnés par filtration de l'air avant d'être mis en culture. Les endotoxines*, aussi collectées par filtration, ont été quantifiées par le Limulus test (LAL-test)*. Les étapes de travail investiguées à l'aide de prélèvements à

point fixe*, étaient : le déchargement des différentes matières (copeaux, souches, tourbe et CSR); le broyage/concassage et le stockage des combustibles. L'exposition des conducteurs d'engins de transport, des préparateurs et des agents techniques a été mesurée par prélèvements individuels*. Les résultats des mesures des différentes nuisances sont très variables d'une mesure à l'autre. Le déchargement des matières brutes, en particulier de la tourbe génère les plus fortes concentrations de COV, poussières inhalables et bioaérosols (bactéries et endotoxines) alors que les plus fortes concentrations en champignons ont été observées lors du déchargement des copeaux. La plupart du temps, lors de ces opérations de déchargements, les valeurs limites d'exposition professionnelle et les recommandations ont été dépassées. La plupart des COV détectés provenaient du bois de pin et d'épicéa. Les concentrations pouvaient être très élevées (> 3000µg/m³) le long des tapis roulants qui transportent les différents combustibles L'utilisation de moteur diesel dans les halles de déchargement a généré des concentrations de CO et NO₂ qui dépassaient les VLEP_{15min}*. Les tâches de maintenance, telles que le nettoyage des broyeurs/concasseurs ou des sols près des silos ont été aussi très exposantes. Les collaborateurs travaillant dans les chambres de contrôle ou dans les cabines de véhicules ont été moins exposés que les autres. Quant aux employés des

laboratoires, leur exposition était sujette à des pics de poussières inhalables (> que VLEP_{15 min}) lors de l'ouverture de fûts de matière brute.

Commentaire

Cette étude que l'on peut considérer comme pilote donne des pistes pour planifier les campagnes de mesures et les stratégies d'échantillonnage des différentes nuisances rencontrées dans ces centrales. Elle fournit une multitude de données et permet de mettre en exergue les processus qui génèrent les plus fortes concentrations de nuisances aéroportées ainsi que les tâches les plus exposantes. Il ressort que les ouvriers sont exposés à de nombreuses nuisances tant biologiques que chimiques et que, très souvent, les tâches de courtes durées sont associées avec des pics très élevés d'exposition (ouverture de sacs, de portes, manipulation de matériel dans les silos, nettoyage, etc.). Il est dommage que le nombre de prélèvements par tâche et par combustible soit très faible et que seules les valeurs minimales et maximales soient présentées.

Effets de l'exposition aux bioaérosols sur la santé respiratoire des travailleurs des sites de compostage: une étude de suivi à 13 ans de distance

Van Kampen V. et al. (2017). Effect of bioaerosol exposure on respiratory health in compost workers: a 13-year follow-up study. *Occup Environ Med*, vol.73, p: 829-37.

Résumé

Cette étude longitudinale a été menée en Allemagne en 1996 et 2009 et a suivi la santé respiratoire de 74 hommes travaillant sur 31 sites de compostage. L'étude comprenait aussi 42 travailleurs ayant abandonné la profession entre 1997 et 2009 ainsi que 37 personnes travaillant dans des bureaux faisant office de groupe contrôle. En 1996/97 et 2009, les symptômes associés à une maladie respiratoire chronique ont été documentés à l'aide d'un questionnaire et des tests spirométriques* ont été réalisés. De plus, les anticorps spécifiques (IgE et IgG) contre des allergènes et moisissures communes ont été recherchés dans les sérums de tous les participants. Les résultats ont montré que, parmi les travailleurs et les ex-travailleurs du compost, le nombre de participants ayant déclaré des symptômes de toux augmentait significativement au cours des 13 années de suivi. Le risque relatif, estimé par un test statistique de régression, de souffrir de symptômes de toux et de toux productive était significatif, uniquement chez les ex-travailleurs (RR de 2.46, 95% CI 1.13-5.38 et 2.93, 95% CI 1.27-6.76 respectivement). Le fait d'avoir travaillé plus de cinq ans dans le compostage augmentait aussi significativement le risque de souffrir d'une toux productive ou non (RR de 1.28, 95% CI 1.15-1.44 et 1.32, 95% CI 1.17-1.48 respectivement). En revanche, aucune augmentation significative du risque relatif de souffrir de BPCO* n'a été mise en évidence parmi les participants des trois groupes, seul le statut de fumeur ou d'anciens fumeur augmentait ce risque. Il n'y avait pas de différence dans le déclin des fonctions pulmonaires entre les participants des trois

groupes. En ce qui concerne les tests immunologiques, aucune différence significative n'a pu être mise en évidence entre les trois groupes, ce qui suggère que le dosage des anticorps testés dans ce travail ne pouvait pas être utilisé comme biomarqueurs d'une exposition aéroportée aux microorganismes. Les conditions de travail ont aussi évolué entre les deux périodes de l'enquête. En 2009, davantage de travailleurs passaient plus de la moitié de leur temps à conduire les chargeuses et les cabines de celles-ci étaient plus fréquemment équipées de système de ventilation qu'en 1996 (88% vs 64%). De plus, la proportion de travailleurs portant occasionnellement une protection respiratoire avait plus que doublé en 13 ans (87% vs 36%). Les auteurs suggèrent que l'absence d'effets respiratoires sévères est en partie due à cette amélioration des conditions de travail.

Commentaire

Cette étude chez les travailleurs de plateforme de compostage porte sur la plus longue durée jamais étudiée dans ce secteur de travail. Il montre que cette filière a fourni un gros effort de prévention vis à vis des expositions aux bioaérosols. Ces mesures de prévention semblent être efficaces puisque le déclin des fonctions pulmonaires, l'augmentation des symptômes de bronchites chroniques et d'irritation des muqueuses, qui avaient été mis en évidence chez ces travailleurs après 5 ans (lors d'un premier suivi en 2001, (4)), ne sont plus observés. Cependant, des symptômes de toux restent plus fréquemment rapportés dans cette population de travailleurs et d'ex-travailleurs que dans la population contrôle et ont significativement augmenté depuis 1996, ce qui signifie que des efforts restent encore à faire.

La principale limite de cette étude est la grande perte d'effectifs entre les deux périodes investiguées (218 vs 74) qui peut conduire à une sous-estimation du risque réel de prévalence de problèmes respiratoires et à un biais lié à l'effet du travailleur sain. Comme le soulignent les auteurs, pour mieux estimer les risques sanitaires, des études de relations doses-réponses sont nécessaires. Cependant, ces dernières sont difficiles à réaliser en raison de la complexité et de la grande variabilité des expositions.

CONCLUSION GÉNÉRALE

Ces deux études montrent que la caractérisation de l'exposition aux agents biologiques dans ces filières de valorisation des déchets est très complexe en raison de la grande variabilité de ces expositions et la présence de nombreux pics d'exposition. De nombreux paramètres peuvent influencer ces expositions à commencer par les matières brutes (combustibles) dont la provenance et la charge en microorganismes varient sans cesse. De plus, il ressort aussi que des nuisances chimiques sont générées lors du traitement de ces déchets végétaux, dont une partie émise par l'utilisation de véhicules à moteurs diesel lors du déchargement/chargement. Les effets sanitaires chroniques liés à ces expositions sont, pour l'instant, très rarement évalués. Une étude de cohorte sur une période de 13 ans, dans la filière du compostage montre que, grâce à une amélioration des mesures de prévention de l'exposition aux poussières organiques, les atteintes de la santé respiratoire des travailleurs sont moindres par rapport à la situation observée auparavant. Il importe donc, que des analyses de risques professionnels soient systématiquement réalisées dans ces nouveaux secteurs de travail avec, en parallèle, la mise en place d'un suivi de la santé des travailleurs. Ceci afin de pouvoir identifier rapidement les potentielles atteintes sanitaires en lien avec les expositions chroniques dans ces filières professionnelles.

GENERAL CONCLUSION

These two studies show that the characterization of exposure to biological agents in green and wood waste recycling plants is very complex. This is due to the fact that their concentrations vary largely during a whole day and to the high variability of the handled materials and their microbial load. Furthermore, it is shown that chemical pollution is also generated during the processing of the biomass, some of which is emitted by the diesel-powered vehicles used for the unloading/loading process. The chronic health effects associated with these exposures are very rarely evaluated. A first long-term, chronic exposure study in composting plants shows that, thanks to an improvement of working conditions and preventive measures in the workplace, the effects of bioaerosol exposure on workers' respiratory health are less important than those previously observed. Therefore, it is important that occupational hygiene measures are systematically carried out in parallel with the workers' health follow-up. This could allow identification of the potential specific health problems related to chronic exposure in these sectors.

Lexique

Amendement : En agriculture, l'amendement est une opération ayant pour but d'améliorer les propriétés physiques, chimiques ou biologiques d'un sol.

Bioaérosols : Ce sont des particules aéroportées d'origine organique ou provenant de microorganismes. Ils comprennent, entre autres, les bactéries, champignons et virus ainsi que leurs composants (endotoxines, molécules allergènes) et leurs toxines (mycotoxines).

Biomasse : Elle représente les matériaux organiques d'origine animale ou végétale indépendamment de toute transformation par des processus géologiques (par opposition à la biomasse fossile : le pétrole, le charbon et le gaz naturel). On distingue la biomasse sèche (telle que le bois) de la biomasse fermentable (telle que les déchets de cuisine) dont une transformation chimique naturelle est source de gaz (le biogaz par exemple).

BPCO : Broncho-pneumopathie chronique obstructive.

IgE, IgG : Les immunoglobulines de classe E ou G (IgE, IgG) sont des anticorps produits par le système immunitaire. Les IgE sont normalement présentes dans le sang en très petites quantités et peuvent être produites spécifiquement en réponse à une exposition à un type d'allergène. Elles sont responsables des réactions allergiques. Les IgG sont présentes en grandes quantités dans le sang, elles permettent de lutter contre les bactéries et les virus.

Endotoxine : Élément constitutif de la paroi des bactéries à Gram négatif. Les endotoxines possèdent comme parties biologiquement actives un fragment de paroi et du lipopolysaccharide. Les endotoxines sont essentiellement libérées lors de la lyse bactérienne et sont à l'origine d'actions sur le système immunitaire, la coagulation et l'inflammation. Leur inhalation peut être à l'origine de symptômes respiratoires

Prélèvement individuel, à point fixe : Le prélèvement individuel se fait dans la zone respiratoire des travailleurs, c'est l'approche la plus représentative pour mesurer l'exposition réelle. Les mesures à point fixe dites d'« ambiance du lieu de travail » quant à elles permettent de cartographier la concentration dans une zone, un atelier par exemple (INRS).

VLEP : Il s'agit de la valeur limite d'exposition professionnelle. Elle indique la concentration dans l'air que peut respirer une personne pendant un temps déterminé sans risque, en théorie, d'altération pour sa santé. La définition réglementaire de la VLEP donnée par le code du travail reprend la définition fixée au niveau européen. Il s'agit de la limite de la moyenne, pondérée en fonction du temps, de la concentration d'un agent chimique dangereux dans l'air de la zone de respiration d'un travailleur au cours d'une période de référence déterminée. Au niveau réglementaire, la période de référence est soit de huit heures (VLEP huit heures), soit de quinze minutes (VLEP court terme).

Test LAL : Test utilisant des cellules circulantes de *Limules* (d'où son nom : LAL = Lysat d'amoebocytes de limule) et permet le dosage quantitatif et cinétique des endotoxines de bactéries à Gram-négatif.

Tests spirométriques : Ce sont des tests de la fonction respiratoire qui incluent un groupe d'examen qui permettent de savoir jusqu'à quel point les poumons sont

efficaces. On mesure la quantité d'air que les poumons peuvent contenir et la capacité à expulser cet air.

Publications de référence

1 Schlünssen V, Madsen A, Skov S *et al.* Does the use of biofuel affect respiratory health among male Danish energy plant workers ? *Occup Environ Med* 2011;68:467-73.

2 Galès A, Bru-Adan V, Godon JJ *et al.* Predominance of single bacterial cells in composting bioaerosols. *Atmos Environ* 2015;107: 225-32.

3 Rohr AC, Campleman SL, Long CM *et al.* Potential occupational exposures and health risks associated with biomass-based power generation. *Int Environ Res Public Health* 2015;12:8542-605.

4 Bünger J, Schappler-Scheele B, Hilgers R *et al.* A 5-year follow-up study on respiratory disorders and lung functions in workers exposed to organic dust from composting plants. *Int Arch Occup Environ Health* 2007;80:306-12.

Liens d'intérêts :

Les auteurs déclarent n'avoir aucun lien d'intérêt.

L'exposition *in utero* à l'activation de l'immunité maternelle est un facteur de prédisposition à des anomalies du comportement et de la réponse immunitaire chez le jeune et l'adulte.

Laetitia DAVIDOVIC | davidovic@ipmc.cnrs.fr

CNRS - Institut de pharmacologie moléculaire et cellulaire, UMR7275 - Valbonne

Mots clés : Autisme, comportement, immunité maternelle, interaction gène-environnement, neurodéveloppement

Le cerveau est un organe extraordinairement complexe dont le développement est fortement influencé par le patrimoine génétique individuel et l'environnement. Les interactions Gène – Environnement sont impliquées dans certains troubles du neurodéveloppement*. L'hypothèse des impacts multiples (multiple hit hypothesis) avance que, sur un terrain génétiquement prédisposé, l'exposition *in utero* à l'activation de l'immunité maternelle (AIM)* suite à l'infection pendant la grossesse par un agent biologique (virus, bactérie, parasite) précipiterait l'apparition de troubles du spectre autistique (TSA)* chez l'enfant (1-4). Les TSA sont caractérisés par des déficits de communication et d'interaction sociale et des stéréotypies* verbales et motrices. Les TSA touchent aujourd'hui un enfant sur 100 et les garçons sont 2 fois plus touchés que les filles. Plusieurs modèles génétiques d'autisme sont obtenus chez la souris par la manipulation de variants génétiques* associés aux TSA chez l'humain. Un modèle animal environnemental d'autisme est obtenu en injectant pendant la gestation de la souris de molécules favorisant l'AIM* et l'inflammation* (1-3). Ainsi, l'injection de lipopolysaccharides* (LPS) ou d'acide nucléique polyinosinique:polycytidylique* (poly(I:C) mime respectivement une infection bactérienne ou virale provoquant un état inflammatoire chez la mère (1). La progéniture à naître garde l'empreinte de cette exposition à l'AIM* et développe des troubles comportementaux apparentés à l'autisme (5). La publication de Rose et al. a développé un modèle AIM* chez le primate non-humain, le macaque *Rhesus*, et montre que les altérations immunitaires corrèlent avec l'intensité des anomalies comportementales de type stéréotypie*. La publication de Schaafsma et al. utilise un modèle classique de souris AIM* pour explorer le poids de l'interaction gène-environnement et du sexe dans le développement de troubles de l'interaction sociale, liés à l'autisme.

L'exposition *in utero* à l'activation de l'immunité maternelle conduit à des altérations à long terme de la réponse immunitaire dans un modèle de primate non-humain.

Rose DR. et al. (2016). Long-term altered immune responses following fetal priming in a non-human primate model of maternal immune activation. *Brain Behav Immun*, vol.16: p.30522.

Résumé

La plupart des études de l'impact du facteur environnemental AIM* ont été effectuées chez des rongeurs. La transposition des résultats obtenus à l'homme était limitée à ce modèle rongeur et le développement d'un modèle AIM* primate non humain a fait l'objet de cette étude. Des femelles macaques *Rhesus* gestantes ont reçu pendant la gestation une injection de poly(I:C)* ou d'une solution contrôle. La descendance des deux groupes a été suivie au niveau comportemental et immunitaire jusqu'à

l'âge de quatre ans. Des anomalies comportementales ont été observées dans la descendance poly(I:C)*, présentant une augmentation notable des stéréotypies* motrices. L'analyse du sérum et des cellules mononucléées du sang périphérique (PBMC)* a montré que la progéniture exposée à l'AIM* présentait une production anormalement élevée de cytokines* inflammatoires à un an: l'interleukine (IL)-1 β , l'IL-6, l'IL-12p40, l'interféron γ (INF- γ) et le facteur de nécrose tumorale (TNF) α . À 4 ans, la progéniture exposée à l'AIM* présentait toujours une IL-1 β sérique élevée, et une augmentation de la production de cytokines IL-4 et IL-13 après stimulation des PBMC. A un et quatre ans, les auteurs ont observé une corrélation positive entre l'intensité des stéréotypies* motrices et la production de plusieurs cytokines* dans le sérum et les PBMC, notamment CCL3, GM-CSF, IL-1b et IL-12p40 à 1 an et IL-4, IL-10 et IL-13 à 4 ans. Cette étude suggère que l'exposition *in utero* à l'AIM* chez le macaque modifie de manière durable le comportement et active le système immunitaire.

Commentaire

Ce nouveau modèle de primate non humain d'AIM* a un fort potentiel translationnel*. En effet, le répertoire comportemental de la souris est limité alors que les macaques ont un répertoire complexe, tant au niveau moteur, que social ou cognitif. Ces données étayent la théorie de la relation de cause à effet entre exposition à l'AIM* et les troubles du neurodéveloppement*. Les études de corrélation montrent un lien entre les anomalies immunitaires et l'intensité des séquelles comportementales, chose qui n'avait pas été faite chez les primates jusqu'à maintenant.

Cependant, cette étude a certaines limites. Notamment, l'impact de la fenêtre temporelle d'exposition à l'AIM (1^{er}, 2^{ème} ou 3^{ème} trimestre) n'est pas exploré, probablement en raison des faibles effectifs des groupes. Ensuite, l'influence du genre des individus étudiés n'est pas considérée. Il est possible que certaines anomalies soient plus fortes chez la descendance mâle, en accord avec ce qui est observé chez l'humain. D'autre part, les analyses présentées ne sont que corrélatives et ne démontrent pas un lien direct de cause à effet entre l'exposition à l'AIM et les stéréotypes. De plus, il existe un décalage de deux à trois mois entre la prise de sang et l'évaluation comportementale, les mesures ne sont donc pas simultanées. Considérant que certaines cytokines comme IL-6 peuvent passer la barrière hématoencéphalique* et que leur signalisation joue un rôle important dans le neurodéveloppement, il est possible que ces anomalies immunitaires périphériques atteignent le cerveau et perturbent les neurones, astrocytes et la microglie répondant à ces molécules. Enfin, il est regrettable que des déficits de communication et d'interaction sociale n'aient pas fait aussi l'objet de cette étude alors que ces groupes de symptômes sont essentiels pour le diagnostic des TSA chez l'humain, surtout sachant que le même modèle a précédemment montré des altérations de l'attention sociale (1). Ceci permettrait d'évaluer de manière plus complète la validité de l'association observée dans ce modèle AIM macaque et sa translationalité* à l'humain.

Induction de comportements autistiques et interactions gène-environnement sexe-spécifiques

Schaafsma SM. et al. (2017). Sex-specific gene-environment interactions underlying ASD-like behaviors. Proc Natl Acad Sci U S A, vol.114 (6): p.1383-1388.

Résumé

Ce travail explore chez la souris les interactions existant entre 3 facteurs connus pour augmenter la vulnérabilité aux TSA* chez l'humain: le genre (prédisposition aux TSA* plus importante pour le sexe masculin), le fardeau génétique (la présence de variants génétiques sur le gène *CNTNAP2**) et l'environnement (l'exposition *in utero* à l'AIM* augmente le risque de TSA). Dans ce contexte, les auteurs comparent l'intensité des anomalies comportementales (communication ultrasonique*, reconnaissance sociale, hyperactivité) de quatre groupes d'animaux qui diffèrent par le nombre de leurs facteurs de vulnérabilité. Les trois facteurs ont des

effets cumulatifs délétères sur le nombre de vocalisations ultra-soniques* émises par le jeune souriceau soumis à la séparation maternelle et sur l'hyperactivité. Les vocalisations sont diminuées et l'hyperactivité est augmentée dans les groupes à deux impacts (mâles ayant subi l'AIM* ou mâles mutés ou femelles mutées ayant subi l'AIM) et trois impacts (mâles mutés ayant subi l'AIM*), par rapport aux groupes contrôle à zéro impact (femelles contrôles) ou à un impact (mâles contrôle ou femelles mutées ou femelles et AIM*). Seul le groupe à trois impacts montre des déficiences dans la reconnaissance sociale à l'âge adulte. Au niveau moléculaire, les groupes à deux et trois impacts présentent des modifications de niveaux d'ARNm de la corticolibérine* (augmenté) et de son récepteur (diminué), traduisant des déficits dans le système régulant la réponse au stress, sous contrôle de l'axe hypothalamo-hypophysaire* et dus à des modifications épigénétiques*.

Commentaire

Cette étude montre clairement que la théorie des impacts multiples a une validité et une robustesse dans le modèle souris. Cela renforce l'importance de considérer les interactions gènes-environnement dans le contexte des troubles du neurodéveloppement*. Il est nécessaire de poursuivre ce type d'étude en utilisant d'autres variants génétiques et d'autres facteurs environnementaux pour pleinement valider cette théorie. L'impact épigénétique sur les gènes liés à la corticolibérine est intéressant. Ces travaux ont été étendus à l'ensemble du génome dans une publication récente (5). D'autre part, d'autres anomalies comportementales devraient être étudiées, tels que des anomalies motrices décrites dans un article récent (6) ou des déficits cognitifs qui pourraient aussi expliquer les déficits de reconnaissance sociale. Enfin, il serait important d'étudier cette théorie à trois impacts sur d'autres phénotypes connus pour être modulés par l'activation de l'immunité maternelle : l'inflammation (6) et les anomalies métaboliques.

CONCLUSION GÉNÉRALE

Le modèle de primate non-humain de l'article de Rose et al. (2016) a permis de montrer que l'exposition à l'AIM déclenche une augmentation de la sécrétion de cytokines inflammatoires dans le sang mais aussi par les PBMC* après stimulation. De plus, cette étude a permis d'établir un lien précoce dès l'âge d'un an entre les anomalies immunitaires et les stéréotypies induites par l'exposition à l'AIM *in utero*. L'exploration systématique de la théorie des impacts multiples (Sexe x Gène x Environnement) appliquée aux troubles du neurodéveloppement* dans l'article de Schaafsma et al. (2017), montre un effet cumulatif délétère de ces facteurs sur les anomalies d'interaction sociale et certains marqueurs épigénétiques. Ces publications supportent l'importance de sensibiliser les femmes en âge de procréer à la vaccination pour limiter l'infection pendant la grossesse qui reste un facteur de risque environnemental majeur pour les troubles du neurodéveloppement.

GENERAL CONCLUSION

The nonhuman primate model used in publication of Rose et al. (2016) showed that exposure to MIA triggers an increase in secretion of inflammatory cytokines in the blood but also in PBMCs after stimulation, as compared to controls. In addition, this study established an early link from the age of 1 year between immune abnormalities and stereotypies induced by exposure to AIM in utero. The systematic exploration of the theory of multiple impacts (Sex x Gene x Environment) applied to neurodevelopment disorders in the paper of Schaafsma et al. (2017), shows a deleterious cumulative effect of these factors on the social interaction anomalies and on some epigenetic markers. These publications support the importance of sensitizing women of childbearing age to vaccination to limit infection during pregnancy, which remains a major environmental risk factor for neurodevelopmental disorders.*

Lexique

Acide nucléique polyinosinique:polycytidylique (polyI:C): ARN double brin synthétique composé par l'appariement d'un brin de poly(acide inosinique) et d'un brin de poly(acide cytidylique). Sa structure est similaire à l'ARN bicaténaire viral reconnu par les récepteurs de type Toll 3 présents sur certaines cellules immunitaires et simulant une infection virale.

Activation de l'immunité (AI): Réaction de défense immunitaire après agression d'agents externes (virus, bactéries) et conduisant à l'inflammation*.

Axe hypothalamo-hypophysaire : Ensemble des relations établies entre l'hypothalamus et l'hypophyse régulant par

voie hormonale la réponse au stress, l'appétit et l'équilibre hydrique de l'organisme.

Barrière hématoencéphalique : Barrière membranaire semi-perméable qui sépare le sang périphérique du liquide extracellulaire circulant dans le système nerveux central

Cellules mononucléées du sang périphérique (PBMC): Cellules du sang périphérique ayant un seul noyau, comprenant les lymphocytes (cellules T, cellules B, cellules Natural Killer) et les monocytes.

CNTNAP22 : Gène codant pour la protéine associée à la contactine de type 2, une molécule d'adhésion cellulaire importante dans le système nerveux. Chez l'homme, des mutations dans ce gène sont associées dans 70% des cas à l'autisme.

Corticolibérine (en anglais Corticotropin-releasing hormon (CRH): Neurohormone produite par l'hypothalamus et régulant notamment la sécrétion d'hormones glucocorticoïdes de réponse au stress.

Cytokines: Substances solubles de signalisation cellulaire synthétisées par les cellules du système immunitaire, agissant à distance sur d'autres cellules pour en réguler l'activité et la fonction.

Inflammation : Ensemble d'évènements cellulaires et moléculaires suite à l'AI et caractérisée par une activation des cellules immunitaires et une sécrétion importante de cytokines*.

Lipopolysaccharide (LPS): Composant de la membrane externe des bactéries à Gram négatif se fixant sur les récepteurs Toll 4 présents sur certaines cellules immunitaires et simulant une infection bactérienne.

Modifications épigénétiques: Modifications de l'ADN en l'absence de mutations de l'ADN induisant des changements dans leur activité qui peuvent être transmis au fil des divisions cellulaires ou des générations.

Stéréotypies: Reproduction involontaire et continue des mêmes mots ou gestes. L'écholalie ou la stéréotypie verbale concerne la répétition de mots ou syllabes.

Translational / Translationalité: Qui a trait au développement d'applications cliniques à partir de découvertes en recherche fondamentale, par exemple sur des modèles animaux.

Troubles du neurodéveloppement : Anomalies du développement du système nerveux ayant lieu pendant la période embryonnaire et jusqu'à la petite enfance conduisant à des altérations structurales et fonctionnelles du cerveau.

Troubles du spectre autistique (TSA): Troubles neurologiques du neurodéveloppement qui affectent les relations sociales et la communication chez l'enfant et se manifestent aussi par des stéréotypies.

Variant génétique: Changement de la séquence d'un gène lié à une mutation génétique

Vocalisations ultra-soniques : Émission de sons dans le domaine des fréquences ultra-soniques utilisés par le souriceau pour communiquer notamment en cas d'éloignement avec la mère.

Revue de la littérature

1 Careaga M, Murai T, Bauman MD Maternal Immune Activation and Autism Spectrum Disorder: From Rodents to

Nonhuman and Human Primates. *Biol Psychiatry* 2017;81(5):391-401.

2 Scola G, Duong A Prenatal maternal immune activation and brain development with relevance to psychiatric disorders. *Neuroscience*. 2017;27 346:403-408.

3 Estes ML, McAllister AK. Maternal immune activation: Implications for neuropsychiatric disorders. *Science* 2016; 353(6301): 772-7.

4 Meltzer A, Van de Water J. The Role of the Immune System in Autism Spectrum Disorder. *Neuropsychopharmacology*. 2017;42 (1):284-298.

Publications de référence

5 Richetto J. et al. (2017). Genome-wide DNA Methylation Changes in a Mouse Model of Infection-Mediated Neurodevelopmental Disorders. *Biol Psychiatry*, vol.81(3): p. 265-276.

6 Pendyala G, Chou S, Jung Y, Coiro P, Spartz E, Padmashri R, Li M, Dunaevsky A. Maternal Immune Activation Causes Behavioral Impairments and Altered Cerebellar Cytokine and Synaptic Protein Expression. *Neuropsychopharmacology* 2017 *in press*.

Liens d'intérêts

Les auteurs déclarent n'avoir aucun lien d'intérêt.

Évaluation des risques environnementaux dus aux ARN répresseurs

Hervé SEITZ | Herve.Seitz@igh.cnrs.fr

CNRS - Institut de génétique humaine - Montpellier

Mots clés : ARN double-brin, MicroARN, milieu aquatique, perturbateur biologique, xenomiR

Parmi les mécanismes biologiques qui régulent l'expression des gènes, la communauté scientifique a découvert il y a une vingtaine d'années deux modes de régulation impliquant les acides ribonucléiques (ARN). D'une part, des ARN endogènes, appelés «microARN», qui sont des répresseurs de gènes-cibles spécifiques, et qui existent chez tous les organismes animaux et végétaux où ils ont été recherchés. Une technique de détection extrêmement sensible, le «small RNA-Seq»*, permet facilement de les détecter. D'autre part, les longs ARN double-brin*, qui ont la capacité de déclencher la répression de gènes-cibles spécifiques dans une grande variété d'espèces (animaux, plantes, champignons). Cette propriété des ARN double-brin, et leur spécificité, semble permettre le développement de nouveaux insecticides, dont la toxicité serait restreinte à quelques insectes ciblés : des ARN double-brin qui réprimerait des gènes indispensables à la survie de l'insecte permettraient en théorie de le tuer, sans affecter les autres espèces vivantes. Étant donné que des résistances aux insecticides conventionnels apparaissent dans les populations d'insectes (voir <https://www.anses.fr/fr/glossaire/661>), il est en effet important de renouveler les substances actives disponibles. Ces concepts soulèvent de nouvelles questions en matière de risque environnemental :

1) une étude de 2012 a montré la détection de microARN de riz dans des échantillons biologiques animaux. Ce travail, qui suggérait que des microARN présents dans la nourriture pouvaient résister à la digestion, passer dans le sang et atteindre des organes-cibles chez l'animal, a conclu que des régulateurs de l'expression des gènes pouvaient venir perturber l'expression des gènes de l'animal, soulevant des craintes quant à l'existence d'un nouveau type de perturbateur, d'origine biologique.

2) puisque des insecticides à base d'ARN double-brin sont en cours de développement, il est nécessaire de mesurer la persistance de l'ARN double-brin dans le milieu naturel.

Deux articles récents ont exploré ces questions de façon rigoureuse, en investiguant les origines possibles de la détection de microARN de plantes dans des échantillons animaux (réalité biologique, ou artefact technique); et en mesurant la vitesse de dégradation de l'ARN double-brin dans le milieu aquatique.

L'analyse de plus de 800 jeux de données issus de tissus et de fluides biologiques humains révèle que les xenomiR sont probablement des artefacts expérimentaux.

Kang W. et al. (2017). Survey of 800+ datasets from human tissue and body fluid reveals XenomiRs are likely artifacts. RNA, vol. 23(4): p.433-445

Résumé

On appelle «xenomiR» les microARN provenant d'une autre espèce que l'espèce étudiée (par exemple, des microARN de riz détectés dans un échantillon de sang humain (1)). Afin de déterminer l'origine des xenomiRs (réel apport de la nourriture, ou erreur expérimentale due à une méthode de détection trop sensible et/ou trop imprécise), les auteurs de cet article ont compilé de nombreux jeux de données de small RNA-Seq à partir d'échantillons humains, issus de laboratoires indépendants. Ces 824 jeux de données proviennent de divers organes (foie, cerveau, ...), ou de fluides biologiques (sang, plasma, ...) humains.

Des hypothèses discriminantes ont été formulées et testées successivement :

1) Étant donné que les nutriments, issus de l'alimentation, passent dans le sang avant d'être distribués dans tout

l'organisme, des xenomiRs qui seraient issus de l'alimentation devraient être plus abondants dans le sang que dans les organes éloignés du tube digestif. Effectivement, les xenomiRs sont détectés dans 17% des échantillons issus d'organes humains et dans 69% des échantillons de fluides biologiques. Cette observation pourrait suggérer que les xenomiRs sont d'origine alimentaire. Cependant leur abondance reste très faible dans chaque échantillon (0,001 % des microARN détectés), ce qui est peu compatible avec un effet perturbateur sur l'expression des gènes (seuls les microARN les plus abondants semblent actifs (2)). D'autre part, la méthode d'analyse des fluides biologiques est différente de celle des organes, puisqu'elle requiert une étape d'amplification du signal, connue pour enrichir les échantillons en contaminants extérieurs.

2) Les organes du tube digestif, ou en contact avec lui, devraient contenir davantage de xenomiRs alimentaires que les organes les plus éloignés. Mais les cellules les plus exposées aux apports nutritionnels (cellules du foie et cellules sanguines) ne sont pas plus riches en xenomiRs que les cellules du cerveau, qui en sont plus isolées.

3) S'ils sont issus de l'alimentation, les xenomiRs devraient venir d'espèces animales ou végétales abondantes dans l'alimentation. Les xenomiRs observés proviennent

essentiellement d'insectes et de Rongeurs. Ces animaux ne constituent pas une source d'alimentation notable chez l'Homme, spécialement aux États-Unis (où ont été prélevés les échantillons les plus riches en xenomiRs de Rongeurs). Les xenomiRs proviennent rarement d'espèces qui contribuent le plus à l'alimentation humaine (céréales, Oiseaux, Poissons, ...).

4) S'ils sont issus de contaminations expérimentales, ils devraient être similaires entre les jeux de données issus d'un même laboratoire. Les auteurs s'aperçoivent en effet que les échantillons issus d'un même laboratoire sont les plus semblables entre eux, ce qui suggère une contamination spécifique du matériel de laboratoire.

5) Des xenomiRs d'origine alimentaire devraient dépendre du régime alimentaire. Des rats (nourris au riz ou aux pommes de terre) et des porcelets (nourris au lait de vache ou au lait de truie et au maïs) ne présentent pas de différence d'abondance de xenomiRs de ces différentes sources.

Les auteurs concluent que l'observation de xenomiRs, quand elle a lieu, est due à une contamination expérimentale plutôt qu'à une réalité biologique. Le seul test expérimental qui pourrait conforter l'origine alimentaire des xenomiRs (le test de l'hypothèse n°1) peut s'expliquer par les particularités techniques de la détection des microARN dans les fluides biologiques. Les quatre autres tests, dénués de ce genre d'ambiguïté, suggèrent quant à eux une origine artificielle, par contamination de l'équipement des laboratoires.

Commentaire

Cet article propose une vérification rigoureuse des deux hypothèses sur l'origine de l'observation des xenomiRs. Leurs résultats semblent clairement exclure la possibilité que des microARN issus de l'alimentation soient responsables de cette observation. La grande sensibilité du small RNA-Seq semble en revanche pouvoir expliquer que des contaminants (microARN issus d'une espèce étudiée pour une autre expérience dans le même laboratoire) deviennent détectables dans des échantillons, spécialement s'il s'agit d'échantillons de fluides biologiques. Les conclusions de cet article semblent donc éliminer la possibilité que des microARN d'origine alimentaire parviennent à survivre aux conditions du tube digestif, à passer dans le sang et à atteindre des organes-cibles pour en perturber l'expression des gènes.

Dissipation de l'ARN double-brin dans les écosystèmes aquatiques.

Albright VC. et al. (2017). Dissipation of double-stranded RNA in aquatic microcosms. *Environ Toxicol Chem*, vol. 36(5) : p.1249-1253

Résumé

Puisque l'ARN double-brin peut déclencher la répression de gènes-cibles, des insecticides de nouvelle génération, à base d'ARN double-brin spécifiques de gènes d'un insecte particulier, pourraient être développés. Des efforts de recherche en ce sens ont été initiés, pour évaluer la toxicité

et la spécificité des ARN double-brin sur les insectes-cibles (3). Si effectivement l'ARN double-brin vient à être utilisé en agriculture (soit pulvérisé sur les champs, soit exprimé par des plantes transgéniques), la question de sa persistance dans l'environnement se posera. Les auteurs de cette étude ont donc évalué la persistance d'ARN double-brin dans le milieu aquatique (en analysant séparément la colonne d'eau et les sédiments). Ils montrent que l'ARN double-brin est dégradé rapidement, il est non détectable au bout de 96 heures dans la colonne d'eau (qu'il s'agisse d'eau purifiée, d'eau de mare stérilisée, ou d'eau de mare non stérilisée) ; il pénètre très peu dans les sédiments (détecté seulement au bout de 168 heures et à des niveaux très faibles), et en disparaît en 24 heures. Les auteurs concluent que l'ARN double-brin persiste très peu dans le milieu aquatique, et que son usage en agriculture présente peu de risques d'impact environnemental à long terme.

Commentaire

Le résultat de cette étude (la faible persistance de l'ARN double-brin dans le milieu aquatique) est conforme aux attentes théoriques, étant donnée la faible stabilité biochimique de l'ARN de manière générale – mais il était important de le mesurer expérimentalement dans des conditions imitant le milieu naturel de façon réaliste, ce qui a été fait ici. Les choix méthodologiques sont parfois un peu curieux, et des études complémentaires, basées sur des techniques plus communes et bien maîtrisées par la communauté, seront nécessaires pour confirmation : la purification de l'ARN à partir d'échantillons (ici par digestion à la protéinase K, dont on peut douter de l'efficacité dans un échantillon d'eau de mare ou de sédiments) gagnerait à être améliorée ; la détection de l'ARN, par une méthode nouvelle et relativement peu utilisée, serait plus convaincante si elle était basée sur une technique plus éprouvée (qPCR* ou RNA-Seq).

Les auteurs soulignent aussi que la nature des sédiments pourrait modifier le partitionnement de l'ARN double-brin entre la colonne d'eau et les sédiments (les échantillons utilisés dans cette étude étaient riches en sable ; un sol riche en argile pourrait capturer davantage d'ARN double-brin). Il s'agit donc d'un travail pionnier, qui méritera d'être confirmé et généralisé à d'autres natures de milieux aquatiques et de sédiments. En l'état, il suggère que l'ARN double-brin présente peu de risque de persistance à long terme dans l'environnement.

CONCLUSION GÉNÉRALE

Ces deux articles explorent de nouvelles sources théoriques de risque environnemental, suggérées par le développement de nos connaissances sur la régulation des gènes par les ARN. Premièrement, la détection, dans des échantillons biologiques d'une espèce A, de microARN issus d'une espèce B, pouvait suggérer que les microARN pourraient se comporter en perturbateurs de l'expression des gènes, d'origine biologique. L'analyse menée par Kang et al. semble au contraire exclure cette possibilité : les cas précédemment rapportés sont apparemment dus à une contamination du matériel de détection dans le laboratoire. Ce travail indique donc que les microARN issus de l'environnement ne résistent pas aux conditions biochimiques du tube digestif, et qu'ils n'ont donc pas la possibilité d'atteindre des cellules-cibles dont ils perturberaient l'expression des gènes. Deuxièmement, Albright et al. montrent que l'ARN double-brin a une faible persistance dans le milieu aquatique. Des insecticides à base d'ARN double-brin sont actuellement en cours de développement dans l'agro-industrie ; s'ils venaient à être effectivement utilisés dans l'agriculture, il est probable qu'ils se dégradent très rapidement dans le milieu naturel. Il sera, en revanche, nécessaire de réaliser les mêmes mesures sur les produits effectivement proposés par l'industrie, dont il faut s'attendre à ce qu'ils soient modifiés chimiquement pour améliorer leur stabilité biochimique : il faut prévoir que de telles modifications, si elles sont mises en œuvre, augmentent la persistance des ARN double-brin dans l'environnement.

GENERAL CONCLUSION

These two articles explore two novel theoretical sources of environmental risk, as suggested by the development of our knowledge on gene regulation by RNA. Firstly, the detection of microRNAs from species B in biological samples of species A may suggest that microRNAs could behave as biological perturbors of gene expression. The analysis by Kang et al. appears to exclude that possibility: previously reported examples were apparently due to the contamination of laboratory detection equipment. That study thus indicates that microRNAs from the environment do not resist biochemical conditions of the digestive track, therefore they cannot reach target cells where they would perturb gene expression. Secondly, Albright et al. show that double-stranded RNA has a weak persistence in aquatic microcosms. Novel insecticides, based on double-stranded RNA, are currently under development in the industry; if they were to be used in agriculture, it is likely that they will degrade rapidly in the natural environment. Yet it will be necessary to perform the same measurements on the products actually offered by the industry, which will probably be chemically modified to improve their biochemical stability: it can be expected that such modifications would increase the persistence of double-stranded RNA in the environment if they are implemented.

Lexique

ARN double-brin : deux molécules d'ARN peuvent s'apparier et former une double hélice (de structure très similaire à celle de la double hélice d'ADN). Le complexe bimoléculaire ainsi obtenu est appelé «ARN double-brin».

qPCR : méthode de détection très sensible, spécifique d'une séquence d'ADN ou d'ARN choisie.

Small RNA-Seq : méthode de détection à haut débit des petits ARN, dont la grande sensibilité permet de mesurer l'abondance d'ARN très peu exprimés.

Publications de référence

1 Zhang L, Hou D, et al. Exogenous plant MIR168a specifically targets mammalian LDLRAP1: evidence of cross-kingdom regulation by microRNA. *Cell Res* 2012;22 (1):107-26.

2 Mullokandov G, Baccharini A, et al. High-throughput assessment of microRNA activity and function using microRNA sensor and decoy libraries. *Nat Methods* 2012;9(8):840-6.

3 Ahmad A, Negri I, et al. Transportable data from non-target arthropod field studies for the environmental risk assessment of genetically modified maize expressing an

insecticidal double-stranded RNA. *Transgenic Res*
2016;25(1):1-17.

Liens d'intérêts :

Les auteurs déclarent n'avoir aucun lien d'intérêt.

anses

agence nationale de sécurité sanitaire
alimentation, environnement, travail



Connaître, évaluer, protéger

Bulletin de veille BVS scientifique

Édition scientifique • Bulletin de veille n° 33 • Avril 2018
Notes d'actualité scientifique

Qualité des milieux

Exposition de la femme enceinte à la température ambiante et issues de grossesse

Johanna LEPEULE | Johanna.lepeule@univ-grenoble-alpes.fr

Inserm - U1209 - Grenoble

Mots clés : **Acclimatation, malformation congénitale, poids de naissance, température ambiante**

Le cinquième rapport d'évaluation de l'*Intergovernmental Panel on Climate Change* prévoit une augmentation de la température moyenne mondiale de 0,2 à 5,5 °C d'ici 2100, avec des températures plus chaudes en moyenne, mais aussi une amplification et intensification des événements météorologiques extrêmes qui impliquent des variations de température plus importantes et fréquentes (1). Les effets d'une température ambiante élevée ont été largement investigués et reconnus comme associés à une surmortalité (2) ; toutefois les effets sur la morbidité* ont encore été peu étudiés. Les travaux sur les issues de grossesse (i.e. poids et taille à la naissance, durée de gestation, malformations, etc.) se sont focalisés sur la prématurité et indiquent le plus souvent un risque accru associé à une exposition aiguë à la chaleur (3). Toutefois certaines études ne montrent pas d'effet (4) et une hétérogénéité importante dans les travaux menés concerne l'exposition étudiée et sa définition (vague de chaleur* température extrême (percentile, seuil), température moyenne, etc). La majorité de la littérature, y compris sur des événements non liés à la grossesse, s'est focalisée sur l'étude des effets de la température moyenne et des canicules. Les issues défavorables de grossesse, dont la prématurité, sont associées à un fardeau* de maladie considérable supporté par les enfants concernés, avec un risque accru de morbidité et de mortalité néonatale mais aussi à long terme avec un risque accru de difficultés d'apprentissage, de maladies cardiaques et métaboliques, et une altération de la santé respiratoire. Les publications sélectionnées pour cette note traitent pour la première fois de la question des effets de la variabilité de la température sur le poids de naissance, en tenant compte de l'acclimatation des participants (Molina et Saldarriaga) et des liens entre la température ambiante en début de grossesse et les malformations cardiaques congénitales (Auger et al.).

Le péril du changement climatique : exposition *in utero* à des variations de température et issues de grossesse

Molina O. et al. (2017). The perils of climate change: In utero exposure to temperature variability and birth outcomes in the Andean region. *Econ. Hum. Biol.* Vol.24: p.111-124.

Résumé

La question de l'impact du changement climatique sur l'activité humaine s'est focalisée sur l'évaluation des effets d'une augmentation de la température moyenne sur la santé humaine, alors que l'amplification de la variabilité du climat a été très peu étudiée. L'objectif de cette étude était d'évaluer les associations entre l'exposition *in utero* aux variations de température et les issues de grossesse dans les Andes (Bolivie, Pérou, Colombie). L'étude repose sur une base de données incluant d'une part les températures mensuelles relevées entre 1900 et 2010 couvrant une région de 56 x 56 km et d'autre part le poids, le faible poids (<2500g), et la petite taille à la naissance, ainsi que la naissance par césarienne, données issues des *Enquêtes Démographiques et Sanitaires*. Les variations de température sont évaluées relativement à la température moyenne et à l'écart-type observés localement entre 1950 et 2010 ; pour chaque mois de grossesse le nombre de déviations standard (SD) auquel est exposé l'enfant *in utero* est calculé. Les auteurs utilisent des régressions linéaires ajustées sur les facteurs maternels et fœtaux et sur les

tendances temporelles et spatiales. Les auteurs testent l'interaction entre les variations de température d'une part et l'accès aux soins (nombre de visites prénatales, accouchement dans une structure dédiée, assistance médicale à la naissance) et l'insécurité alimentaire (représentée par le % de surface agricole de la ville de résidence) d'autre part. Le changement climatique dans la région des Andes sur la période 1950-2010 se manifeste par une augmentation de la température moyenne, avec de fortes disparités géographiques, et une amplification de la variabilité du climat qui a conduit à une intensification des températures, inhabituellement chaudes (SD>0) et les températures inhabituellement froides (SD<0). L'échantillon étudié comprenait 86 021 enfants nés avant 2011, dont 7% avaient un faible poids, 6% une petite taille à la naissance et 17% étaient nés par césarienne. L'exposition moyenne était de 0,11 SD ; celle-ci n'était pas liée au niveau d'éducation, à l'âge, au statut marital, ou à la parité de la mère ni au sexe de l'enfant ou à la zone d'habitation (urbain/rural). Une augmentation d'1 SD de l'exposition aux variations de température pendant la grossesse était significativement associée à une réduction du poids de naissance de 20 g, un risque accru de faible poids de naissance de 0.7 % et de petite taille à la naissance de 0.9 %. Pour le poids de naissance, les résultats étaient principalement liés à l'exposition au 1^{er} trimestre de la grossesse pendant lequel une augmentation d'un SD était associée à une réduction du poids de naissance de 42,5 g. Des analyses de sensibilité tenant compte des précipitations, des migrations, et de la

durée de gestation ont toutes indiqué la robustesse des résultats énoncés ci-dessus. Les interactions testées indiquent un effet moindre des variations de température sur le risque de faible poids de naissance lorsque le pourcentage de surface agricole est élevé. Les auteurs concluent que les associations observées entre la variabilité de la température, principalement au premier trimestre de grossesse, et le poids de naissance et le petit poids de naissance pourraient être en partie expliquées par l'insécurité alimentaire et les pratiques de soin pendant la grossesse qui peuvent être influencées par l'amplification des variations de température.

Commentaire

Cet article souffre de quelques imperfections qui sont toutefois assez mineures au regard de l'effort accompli par les auteurs pour réaliser une étude focalisée sur les effets sanitaires des variations de température alors que la majorité de la littérature est centrée sur les effets sanitaires des températures moyennes ou des canicules. Les auteurs ont de plus employé une approche globalisante en explorant à la fois l'évolution du climat des Andes sur plusieurs décennies, les déterminants de l'exposition aux variations de température, les associations avec les issues de grossesse, et les canaux potentiels par lesquels les variations de température pourraient affecter les issues de grossesse.

La question de l'acclimatation des populations est rarement prise en compte dans les études épidémiologiques sur les effets sanitaires de la température. L'acclimatation des populations tant sur le plan physiologique que sur le plan de l'adaptation des comportements (chauffage/climatisation, temps passé en intérieur/extérieur, etc..) est mise en jeu à long terme, avec une adaptation au climat local dans lequel les populations évoluent (5), et à moyen terme lors des changements de saison (6). Gasparrini et al. (7) ont montré dans une étude incluant des pays aux climats très variés, que la plupart des effets de la température sur la mortalité étaient dus à des températures non optimales plutôt qu'à des températures dites extrêmes. L'étude de Molina et Saldarriaga montre pour la première fois que des variations de température supérieures aux historiques locaux pendant le premier trimestre de la grossesse ont un effet délétère sur le poids de naissance de l'enfant. L'étude de la petite taille à la naissance et de la naissance par césarienne dans cet article est discutable. La petite taille à la naissance (prévalence de 6%) semble avoir été estimée par la mère et relativement aux autres enfants, sans toutefois que les auteurs fournissent une définition concrète. L'analyse du mode de déclenchement du travail (souvent combiné au mode d'accouchement) est intéressante car elle peut être influencée par les variations de température. Toutefois dans cet article, l'analyse est restreinte à la naissance par césarienne (prévalence de 17%), sans distinction des césariennes programmées et des urgences et sans information sur la raison de la césarienne qui peut n'avoir aucun lien avec des expositions environnementales. Du point de vue de l'analyse statistique, les auteurs indiquent qu'ils utilisent des régressions linéaires. Cette partie aurait mérité davantage de détails notamment concernant

l'analyse des événements binaires comme le faible poids et la petite taille à la naissance et la naissance par césarienne pour lesquels on suppose que les auteurs ont utilisé des modèles adaptés tels que des régressions logistiques. Les auteurs n'ont pas tenu compte du potentiel biais écologique (i.e. en moyenne, les températures et leur variabilité augmentent du fait du changement climatique, et les césariennes et faibles poids augmentent du fait des progrès dans les soins de santé).

Risque de malformation cardiaque congénitale après une exposition à la chaleur en début de grossesse

Auger N. et al. (2017). Risk of Congenital Heart Defects after Ambient Heat Exposure Early in Pregnancy. Environ Health Perspect. Vol.125(1): p.8-14.

Résumé

Chez l'animal, il est reconnu qu'une température élevée a un effet tératogène* cardiaque. Chez l'Homme, une fièvre maternelle au premier trimestre de la grossesse est associée à un risque accru de malformations cardiaques congénitales (MCC) pour l'enfant. L'objectif était d'étudier les liens entre l'exposition à la chaleur ambiante pendant le premier trimestre de la grossesse et le risque de malformations cardiaques congénitales. L'étude repose sur une cohorte rétrospective québécoise construite à partir de données de registres de naissances incluant 704 209 fœtus conçus entre 1988 et 2012. Seuls les fœtus âgés de deux à huit semaines post-conception, période correspondant à la cardiogenèse, entre les mois d'avril et septembre ont été inclus. Le nombre de jours pour lesquels les femmes enceintes étaient exposées à une température maximale $\geq 30^{\circ}\text{C}$ a été calculé en se basant sur les 18 stations météorologiques que compte le Québec. La température maximale à laquelle les femmes étaient exposées à également été calculée pour chacune des semaines post-conception comprises entre deux et huit. Les MCC ont été identifiées sur la base de la classification internationale des maladies et catégorisées en sept MCC critiques (i.e. qui nécessitent fréquemment un traitement ou une intervention dès la naissance) et huit MCC non critiques (i.e. qui ne nécessitent pas de chirurgie ou d'autres procédures pendant la première année de vie), unique ou multiple, et par site (aorte ou artère pulmonaire, valves, septum). Des régressions log-binomiales ont été utilisées pour calculer les ratios de prévalence* (RP) pour la relation entre température et malformations cardiaques congénitales. Les facteurs d'ajustement incluaient l'âge de la mère, les comorbidités maternelles, la parité, le nombre de fœtus, la défaveur sociale, le mois et l'année de conception et l'humidité ambiante. Parmi les 704 209 fœtus inclus, 6482 étaient atteints de MCC dont 543 étaient qualifiées de critiques. La prévalence des MCC était de 975,5 pour 100 000 lorsque les mères étaient exposées à une température $\geq 30^{\circ}\text{C}$ pendant au moins dix jours comparativement aux mères non exposées (0 jour $\geq 30^{\circ}\text{C}$) pour lesquelles la prévalence était de 878,9 pour 100 000. Après ajustement des facteurs de confusion potentiels, les fœtus exposés pendant plus de 15 jours à une température $\geq 30^{\circ}\text{C}$ entre deux et huit semaines post-conception avaient

un risque de MCC critique de 1,06 (IC95% = [0,67; 1,67]), 1,12 pour les MCC non critiques (IC95% = [0,98; 1,29]), 1,08 (IC95% = [0,93; 1,26]) pour les MCC uniques, et 1,26 (IC95% = [0,93; 1,70]) pour les MCC multiples comparativement aux fœtus non exposés. Parmi les MCC non critiques, le risque était particulièrement marqué pour les communications inter-atriales (RP 1,37, IC95% = [1,10; 1,70]) et pour les MCC classées comme autres (RP 1,54, IC95% = [1,20; 1,97]). Pour les MCC non critiques, l'association était plus forte à mesure que le nombre de jours d'exposition à une température $\geq 30^{\circ}\text{C}$ augmentait. Lorsque les auteurs étudiaient la température maximale à laquelle était exposée les mères entre la 2^e et la 8^e semaine post-conception, les associations avec les communications inter-atriales étaient identifiées dès la 3^e semaine post-conception.

Commentaire.

Sur la question très peu explorée des effets de la température ambiante sur les malformations congénitales cardiaques, les auteurs ont mené une étude circonscrite et bien conduite, avec une méthode et des résultats clairs. Ils montrent qu'une exposition à la chaleur, en l'occurrence plus de 30°C pour une population québécoise, entre la 2^e et 8^e semaine post-conception peut induire un risque plus important de MCC non critiques en particulier les communications inter-atriales et pour les MCC classées comme autres. Pour cette dernière catégorie, il aurait été pertinent de fournir une description détaillée des malformations concernées. Deux précédentes études ont porté sur la question de la température et des MCC, l'une conduite à New-York qui avait conclu à une absence de relation significative et l'autre conduite en Israël, qui avait montré une association significative et délétère de la température avec les MCC multiples. Cependant, comme cela est discuté dans le papier d'Auger et al. la population Israélienne est probablement plus résiliente à la chaleur du fait du climat local alors que la population québécoise, moins habituée aux températures élevées, pourrait être plus sensible à la chaleur, ce qui expliquerait les résultats significatifs observés dans la population québécoise pour les MCC uniques. Ceci illustre le besoin de réaliser des études qui prennent en compte l'acclimatation des populations. Une température de 30°C n'aura probablement pas le même impact sur la santé des Montréalais que sur celle des Israéliens.

CONCLUSION GÉNÉRALE

L'étude de Molina et Saldarriaga montre un effet délétère des variations de température, principalement lorsqu'elles se produisent au premier trimestre, sur le poids de l'enfant à la naissance, en tenant compte des phénomènes d'acclimatation locaux. Cette étude comble plusieurs brèches repérées dans la littérature, sur la variation de l'exposition et l'étude du poids de naissance jusque là peu investiguées, même si les résultats nécessitent d'être répliqués dans d'autres contextes. L'étude d'Auger et al. est parmi les premières à fournir une évidence quant aux effets potentiels d'une température ambiante élevée entre la 2^e et 8^e semaine post-conception, sur les malformations cardiaques congénitales. Les auteurs tiennent compte en partie de la variation de l'exposition, de par leur évaluation du nombre de jours dont la température excède 30°C . Même si ces résultats sont appuyés par une littérature chez l'animal qui indique un effet tératogène de la température élevée, il faut toutefois rester prudent quant aux effets chez l'homme et répliquer ces résultats.

Molina et Saldarriaga, et Auger et al. ont respectivement identifié le premier trimestre vis à vis du poids de naissance et la période débutant dès la 3^e semaine post-conception vis à vis des MCC, comme étant potentiellement les plus à risque pour ce qui concerne l'exposition à la température ambiante. Cette question des fenêtres de sensibilité requiert des données détaillées sur les dates de conception et de naissances qui ne sont pas nécessairement bien renseignées dans les grandes bases de données telles que celles exploitées dans ces deux études. La contribution d'études, probablement plus petites et mieux renseignées (cohortes par exemple), permettra d'approfondir cette thématique. Sur le plan de l'évaluation des expositions, des progrès restent à faire pour améliorer la précision des réponses apportées en termes de risque sanitaire. Même si la température moyenne augmente à long-terme, les variations de température peuvent être particulièrement importantes et sur des périodes courtes qui ne permettent pas aux populations de s'adapter à ces changements brutaux. Prendre en compte l'acclimatation locale et saisonnière et explorer la variation des expositions en complément de la température moyenne et des pics de chaleur est une étape cruciale pour apporter aux décideurs publics des réponses pratiques et cohérentes en regard des changements climatiques observés et attendus. De plus, et comme souligné dans l'étude de Gasparrini et al. (7), le froid peut également avoir un impact sanitaire important. L'évaluation de l'impact sanitaire de la chaleur a focalisé une grande partie de l'attention alors que les effets du froid (extrêmes ou baisse de température) sont souvent négligés dans la littérature.

De manière intéressante, Molina et Saldarriaga ont distingué les variations négatives et positives de température ; ils ont observé que seules les variations positives (i.e. plus chaud qu'habituellement) étaient significativement associées au poids de naissance. La problématique de l'erreur de mesure est très prégnante en épidémiologie environnementale. Dans la quasi totalité des études visant à évaluer les effets de la température sur la santé, l'exposition des participants est estimée à partir des stations météorologiques qui peuvent être situées jusqu'à plusieurs dizaines de kilomètres des domiciles des participants. Elles ne permettent pas de capturer la variabilité spatiale de la température notamment dans les zones urbaines et péri-urbaines. Des modèles spatialement fins d'estimation de la température ambiante (8) sont développés, permettant ainsi de limiter l'erreur de mesure sur l'exposition et d'identifier les îlots de chaleur urbains. Ces modèles ne permettent toutefois pas de tenir compte de l'exposition en air intérieur. Le temps passé en air intérieur et extérieur n'est le plus souvent pas pris en compte.

Regarding exposure estimates, technical developments are needed to improve the knowledge and better inform stakeholders regarding the health threat of temperature in pregnant women and children. To account for local and seasonal acclimation and investigate exposure variation (besides mean temperature and heat waves) constitute a crucial step to provide relevant answers regarding potential health effects of observed and expected changes in temperature. Moreover, as highlighted by Gasparrini et al.(7), cold may also be responsible for a significant part of the health burden of temperature changes. Health effects of heat have drawn a lot of attention, while cold has been largely neglected. Interestingly, Molina and Saldarriaga distinguished between positive and negative variations of temperature exposure and found that only positive variations (higher temperatures) in the first trimester of pregnancy were significantly associated with birth weight. Exposure measurement error is a major issue in environmental epidemiology. Most of the literature on the health effects of temperature exposure relied on the meteorological stations network, which can be located several dozens of kilometers away from the participants home address. Thus they do not capture the spatial variability of temperature exposure, especially in urban and peri-urban areas. Fine temperature exposure models have started developing (8), allowing to limit exposure measurement error and to identify urban heat islands. These models though do not account for indoor exposure, nor for time spent indoor and outdoor.

GENERAL CONCLUSION

Molina and Saldarriaga study shows an adverse effect of temperature variations, mainly during the first trimester of pregnancy and accounting for acclimation to local temperature, on birth weight of the baby. Although the Molina and Saldarriaga results need replication, this study adds to the growing literature especially regarding the investigation of temperature variation and birth weight. The study by Auger and colleagues is among the first to provide evidence of effects of high ambient temperature exposure between the 2nd and 8th week post-conception on congenital heart defects. The authors partly accounted for exposure variations by considering the number of days the temperature exceeds 30°C. While these results are supported by animal studies, which have reported a teratogen effect of high temperature, caution is needed regarding extrapolation to humans and more human studies are required.

Molina and Saldarriaga and Auger and colleagues have identified respectively the first trimester regarding birth weight, and a time window starting the 3rd week post-conception regarding congenital heart defects, as sensitive windows for temperature exposure. Identifying sensitive time windows of exposure requires detailed data on conception and birth dates, which was probably not the first strength of these two studies based on birth registries. For this matter, the contribution of dedicated and probably smaller studies, such as cohort studies, will be a valuable insight.

Lexique

Fardeau : Ensemble des maladies liées à un facteur commun. Il est parfois exprimé en DALY (Disability-Adjusted Life Year).

Morbidité : Relatif à la maladie; représente le nombre d'individus atteints par une maladie dans une population donnée et pendant une période déterminée.

Prévalence : Nombre de cas atteint d'une maladie à un temps donné.

Tératogène : Qui est susceptible de causer des malformations à l'embryon ou au fœtus.

Vagues de chaleur : Il n'existe pas de définition universelle. Il s'agit d'une exposition à une température ambiante considérée comme anormale pendant une durée définie.

Publications de référence

1 Stocker TF. Climate change 2013: the physical science basis: Working Group I contribution to the Fifth assessment report of the Intergovernmental Panel on Climate Change. Cambridge University Press; 2014.

2 Basu, R., Samet, J.M., 2002. Relation between elevated ambient temperature and mortality: a review of the epidemiologic evidence. *Epidemiol Rev* 24, 190–202.

3 Cox B, Vicedo-Cabrera AM, Gasparrini A, et al. Ambient temperature as a trigger of preterm delivery in a temperate climate. *Journal of Epidemiology & Community Health.* 2016.

4 Wolf J, Armstrong B. The Association of Season and Temperature with Adverse Pregnancy Outcome in Two German States, a Time-Series Analysis. *PLoS ONE* 2012

5 Ye X, Wolff R, Yu W, et al. Ambient temperature and morbidity: a review of epidemiological evidence. *Environ. Health Perspect.* 2012 ; 120, 19–28.

6 Lee M, Nordio F, Zanobetti A, et al. Acclimatization across space and time in the effects of temperature on mortality: a time-series analysis. *Environmental Health* 2014 ; 13, 89.

7 Gasparrini A, Guo Y, Hashizume M, et al. Mortality risk attributable to high and low ambient temperature: a multicountry observational study. *Lancet* 2015 ; 386, 369–375.

8 Kloog I, Nordio F, Lepeule J, et al. Modelling spatio-temporally resolved air temperature across the complex geo-climate area of France using satellite-derived land surface temperature data. *International Journal of Climatology* 2017.

Liens d'intérêts :

Les auteurs déclarent n'avoir aucun lien d'intérêt.

Étude des effets biologiques des hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAPs) en liant biomarqueurs d'exposition et biomarqueurs d'effet

Marie-Cécile CHALBOT | chalbot@uab.edu

University of Alabama at Birmingham - School of Public Health, Environmental Health Sciences - Birmingham, Alabama - États-Unis

Mots clés : Biomarqueurs d'effet, fonction ovarienne, hydroxy-HAP, inflammation, santé cardiovasculaire

La surveillance biologique des expositions aux contaminants de l'environnement permet de déterminer la quantité de contaminant qui est absorbée par l'organisme. L'étude des biomarqueurs d'effet permet d'estimer la dose qui induit un effet biologique et de comprendre les facteurs influençant l'apparition de maladies ou de pathologies (1). Les hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAPs) sont des polluants issus de la combustion incomplète de la matière organique. Ils sont émis dans l'air principalement par le chauffage au bois résidentiel et le trafic ; on les trouve à l'état gazeux et dans les particules. Les HAPs se forment aussi lors de la cuisson de grillades et dans les fritures, ils peuvent être présents dans l'alimentation (2). Certains composés de la famille des HAPs sont des cancérigènes connus, comme le benzo[*a*]pyrène. Les métabolites des HAPs réagissent avec l'ADN pour former des adduits, entraînant l'élimination des bases sur lesquelles ils sont liés ou des mutations s'ils ne sont pas éliminés. Ils induisent aussi des réactions inflammatoires et la production d'espèces réactives de l'oxygène, augmentant alors le risque de dommages oxydatifs de l'ADN (3). Les HAPs ont aussi des propriétés perturbatrices endocriniennes (4). Ils entrent dans l'organisme à la fois par inhalation, ingestion d'aliments et par contact avec la peau. Dans les articles commentés dans cette note, l'exposition aux HAPs est déterminée par la mesure de leurs métabolites. On obtient ainsi une dose interne qui intègre chaque mode d'exposition. Ensuite, ces marqueurs sont liés à différents effets biologiques que l'on peut tester. L'article de Luderer et al. présente l'analyse d'effets endocriniens sur le cycle menstruel et l'article de Barthe et al. cible les effets sur l'inflammation, la santé vasculaire et les dommages à l'ADN.

Association entre les biomarqueurs d'exposition aux hydrocarbures aromatiques polycycliques et la fonction reproductive pendant les cycles menstruels de la femme

Luderer U. et al. (2017). Associations between urinary biomarkers of polycyclic aromatic hydrocarbon exposure and reproductive function during menstrual cycles in women. *Environ Int*, vol.100: p.110-120.

Résumé

L'exposition aux hydrocarbures polycycliques aromatiques a un effet sur la fertilité des femmes, notamment d'après des études d'exposition à la fumée de cigarette ou chez les fumeurs. L'objectif de cette étude est de corrélérer biomarqueurs d'exposition aux HAPs et biomarqueurs de la fonction reproductive. Les concentrations urinaires de l'hormone lutéinisante (LH) et l'estrone-3-glucuronide (E3G) de 51 femmes (dont six fumeuses) vivant en Californie, ont mesurées pendant plusieurs mois à partir d'urine recueillie sur une tige absorbante et placée dans un moniteur de fertilité. Les données ont été collectées à partir du 6^e jour du cycle jusqu'à la fin de la période d'ovulation, pour un total de 305 cycles menstruels, toutes participantes

confondues. L'urine a été collectée au dixième jour de deux (trois participants) ou trois cycles (48 participants) pour faire l'analyse de dix métabolites hydroxylés des HAPs (OH-HAPs). Cette étude a mis en évidence un effet de l'exposition aux HAPs sur la durée de la phase folliculaire et sur les concentrations en LH pendant cette phase, le moment où a lieu le pic de LH et sur les modifications des concentrations en E3G lors de l'ovulation. Une approche statistique bayésienne a montré que les concentrations en OH-HAPs améliorent le modèle de référence ajusté sur les variables dont les effets endocriniens sont connus (indice de masse corporelle, apport d'alcool ou de caféine, activité physique, etc...). Les effets observés peuvent être opposés, en fonction du métabolite étudié. Une augmentation des métabolites du fluorène est associée à une augmentation de la concentration maximale de LH avant et pendant le pic, alors qu'une augmentation des métabolites du naphthalène et du phénanthrène sont associés à une diminution de cette concentration. Le fait de fumer induit une augmentation importante des concentrations en métabolites de l'estradiol, mais n'a pas d'effet sur l'hormone LH. Certains métabolites des HAPs induisent une augmentation ou une diminution d'E3G, en proportions moindres.

Commentaire

Cette étude montre que l'exposition aux HAPs a un effet sur le cycle menstruel et sur les concentrations hormonales détectées dans les urines, ce qui peut être considéré comme un effet perturbateur endocrinien. C'est une des premières études qui aborde les effets d'une exposition aux HAPs sur la production de LH, chez des femmes en âge de procréer, sans se limiter aux effets de la fumée tabagique. Une diminution du taux de LH chez des jeunes filles avant la puberté a été observée pour une exposition prénatale à la fumée de cigarette (5). La méthode utilisée pour mesurer les biomarqueurs de la fonction reproductive est facile à mettre en œuvre, fiable et peu coûteuse. Cependant, les concentrations en hormones ne prennent pas en compte la concentration en créatinine de l'urine. D'autre part, les analyses des métabolites d'HAPs dans les urines n'ont pas été faites pour chaque cycle. Le fait de fumer a un effet œstrogénique plus important que certains métabolites d'HAPs qui ont été détectés séparément. Chez les fumeuses, les HAPs sont absorbés par inhalation, ce qui est la principale source d'exposition. Les concentrations en HAPs étant élevées dans la fumée de cigarette et la vitesse de sécrétion des métabolites dans les urines lors de l'inhalation entraînent des différences par rapport aux autres modes d'absorption. D'autres constituants de la fumée de cigarette absorbés et métabolisés par l'organisme peuvent avoir aussi un effet sur la production d'hormones durant le cycle. Il serait pertinent d'isoler l'effet de l'alimentation sur la fonction reproductrice, et éventuellement recommander aux femmes de réduire leur exposition afin d'augmenter leurs chances d'avoir un enfant. Une autre étude a révélé que les concentrations en OH-HAPs sont plus faibles dans une cohorte au Danemark que la cohorte NHANES* aux Etats-Unis (6). Il serait également intéressant de comparer les marqueurs d'effets dans des populations ayant différents niveaux d'exposition.

Association entre les processus d'inflammation, les dommages à l'ADN et l'exposition aux polluants de l'environnement

Barth A. et al. (2017). Association between inflammation processes, DNA damage, and exposure to environmental pollutants. *Environ Sci Pollut Res*, vol.24(1): p.353-362.

Résumé

La pollution de l'air extérieur, en particulier la pollution par les particules, est un facteur de risque de maladies respiratoires, cardiovasculaires, de diabète et de certains cancers. L'explication la plus probable serait la capacité d'engendrer un stress oxydatif et une inflammation. Depuis peu, la communauté scientifique s'intéresse à l'effet de la pollution de l'air sur la fonction endothéliale. Cette étude a pour objectif de déterminer s'il existe un lien entre l'exposition aux polluants de l'air, les marqueurs d'inflammation et de la fonction endothéliale, ainsi que l'apparition de lésions à l'ADN. Un groupe de 45 chauffeurs de taxi exposés à la pollution de l'air extérieur et un autre de 40 personnes travaillant dans des bureaux, donc non-

exposés (groupe contrôle) et tous non-fumeurs, ont été inclus dans cette étude. Les concentrations en 1-Hydroxypyrene (1-OHP) ont été mesurées dans les urines pour estimer l'exposition aux HAPs. Celles-ci sont significativement plus élevées chez les chauffeurs de taxi par rapport au groupe contrôle ($p < 0.0001$). Les concentrations en cytokines pro-inflammatoires sont significativement plus élevées chez les chauffeurs de taxi ($p < 0.0001$). L'expression des molécules d'adhésion intercellulaires (ICAM-1) est également fortement augmentée dans les polynucléaires neutrophiles (PNN) chez les chauffeurs de taxi par rapport à celle du groupe contrôle ($p < 0.001$), mais reste similaire dans le cas des monocytes. Ces molécules sont produites dans les leucocytes suite à une inflammation et sont aussi présentes dans l'endothélium. L'activité des enzymes NTPDase dans les plaquettes est également plus forte chez les chauffeurs de taxi par rapport au groupe contrôle. Enfin, les cassures de l'ADN et la fréquence de micronoyaux (MN, marqueur de génotoxicité) dans les cellules buccales sont plus élevées chez les chauffeurs de taxi. Le test des comètes qui révèle les cassures d'ADN, réalisé en présence d'enzymes de réparation met en évidence des dommages oxydatifs chez les chauffeurs de taxi, alors que pour le groupe contrôle, aucun dommage n'est observé. L'étude montre une association entre le biomarqueur d'exposition et le pourcentage d'ICAM-1 dans les neutrophiles, les quantités d'ADN endommagé et la fréquence des micronoyaux ($p < 0.05$). Les concentrations du marqueur pro-inflammatoire IL-6 sont positivement corrélées aux dommages à l'ADN et au nombre de micronoyaux ($p < 0.001$). En comparaison, les concentrations en 1-OHP sont faiblement corrélées aux dommages à l'ADN. Les auteurs émettent l'hypothèse selon laquelle limiter les réponses inflammatoires peut diminuer l'apparition de cancers dus à la pollution.

Commentaire

Cette étude assez complète montre une association entre une exposition élevée aux HAPs et des dommages à l'ADN. Ces effets sont dus à l'augmentation de l'inflammation induite par les HAPs quand ils sont absorbés par l'organisme. Cette étude a mis en évidence une forte corrélation entre les taux d'interleukine IL-6 et les dommages à l'ADN. On sait que les métabolites des HAPs forment des adduits à l'ADN entraînant l'élimination de ses bases. L'inflammation peut donc avoir également un effet sur la stabilité de l'ADN. L'avantage de cette étude est que différents biomarqueurs prenant en compte la réponse cellulaire (inflammation et dysfonction endothéliale) et des effets physiologiques (dommages à l'ADN) ont été analysés. L'inflammation induite par l'exposition aux HAPs a également un effet sur la fonction endothéliale. Cette étude corrobore aussi l'hypothèse selon laquelle l'inflammation serait à l'origine de maladies cardio-vasculaires, notamment l'artériosclérose (7). Les PNN sont les premières cellules auto-immunes impliquées dans une réponse inflammatoire lorsque des lésions de l'endothélium se forment. La surexpression des cellules d'adhésion favorise l'apparition de plaque d'athérome. Le mécanisme implique aussi les plaquettes qui activent les neutrophiles lors de l'apparition

d'athérosclérose. D'autre part, cette étude montre qu'il existe une faible corrélation entre les concentrations en 1-OHP (biomarqueur d'exposition aux HAP) et les dommages à l'ADN. Ceci s'explique par la présence d'autres constituants dans les polluants susceptibles d'induire une inflammation, par exemple le noir de carbone, les particules fines et les métaux lourds. Une autre étude a mis en évidence des associations entre les particules fines et les ICAM circulant dans le sang (8). Les chauffeurs de taxi sont exposés aux polluants émis par le trafic, donc soumis à une exposition spécifique. L'exposition à d'autres types de contaminants peut avoir des effets biologiques similaires. L'utilisation de ces biomarqueurs peut s'avérer intéressante pour comparer différents types d'émissions, en milieu professionnel ou non.

CONCLUSION GÉNÉRALE

Ces deux publications étudient les associations entre biomarqueurs d'exposition aux HAPs et biomarqueurs d'effets. La première étude montre des effets perturbateurs endocriniens car l'exposition aux HAPs a un effet sur les taux d'hormones lors du cycle menstruel, alors que la deuxième met en évidence l'effet de l'inflammation sur la santé vasculaire et la structure de l'ADN. Dans la première étude, plusieurs métabolites d'HAPs sont dosés alors que dans la deuxième, seul le métabolite hydroxylé 1-OHP est quantifié. Bien que 1-OHP soit un marqueur adéquat de l'exposition à l'ensemble des HAPs, il est observé dans la première étude que des effets différents et parfois contraires sont observés pour des métabolites, du fait de la relation structure-fonction des HAPs. Analyser les dix métabolites des HAPs dans les urines pour étudier les relations entre biomarqueurs d'exposition et biomarqueurs d'effets semble plus approprié. Les concentrations en 1-OHP dans la première étude sont du même ordre de grandeur que celles de la population peu exposée dans la deuxième étude. Ces biomarqueurs d'effet sont donc importants à mesurer dans des études de surveillance biologique à grande échelle, sur des cohortes françaises et internationales, et également en milieu professionnel. Les données de ces publications montrent l'intérêt de réduire les émissions des HAPs dans l'air et l'impact non négligeable de l'alimentation sur l'exposition aux HAPs.

GENERAL CONCLUSION

These two publications study the associations between biomarkers of exposure to PAHs and biomarkers of effect. The first study shows endocrine disrupting properties because exposure to PAHs has an effect on hormone levels during the menstrual cycle, while the second demonstrates the effect of inflammation on vascular health and the DNA structure. In the first study, several PAH metabolites are measured whereas in the second 1-OHP only is measured. Even though 1-OHP is an adequate marker of exposure to all PAHs, it is observed in the first study that different and sometimes contrary effects are observed for different metabolites, due to the structure-function relationship of the PAHs. Analyzing the ten metabolites of PAHs in urine to study the relationship between exposure biomarkers and effect biomarkers seems more appropriate. The concentrations of 1-OHP in the first study are of the same order of magnitude as those of the low-exposure population in the second study. These biomarkers of effect are therefore important to measure in large-scale biological surveillance studies, on French and international cohorts, and also on the working environment. The data from these publications show the value of reducing wood heating or at least their emissions and the significant impact of food on exposure to PAHs.

Lexique

Endothélium : Tissu qui constitue la paroi interne des artères. Les biomarqueurs de la fonction endothéliale sont des indicateurs de l'intégrité des artères.

HAP mono-hydroxylés (OH-HAP) : Métabolites des HAPs.

1-Hydroxypyrrène (1-OHP) : Métabolite du pyrène, marqueur d'exposition aux hydrocarbures aromatiques polycycliques.

Hormone lutéinisante (LH) : Hormone fabriquée par l'hypophyse chez la femme et qui déclenche l'ovulation.

Œstrone-3-glucuronide (E3G) : Métabolite de l'œstradiol, hormone féminine de la famille des œstrogènes. E3G s'accumule dans les urines au moment de l'ovulation.

Molécules d'adhésion intercellulaires (ICAM-1) : Protéines transmembranaires de la famille des immunoglobulines qui permettent aux leucocytes de s'accrocher sur les cellules endothéliales.

Micronoyaux (MN) : Noyaux présents dans le cytoplasme de cellules pendant la division cellulaire. Ils peuvent provenir de fragments de chromosomes sans centromères ou de chromosomes entiers qui ne peuvent pas migrer vers les pôles de la cellule en division.

NTPDase : Enzyme qui prend part à l'hydrolyse des nucléotides et est mesurée lorsque les plaquettes sont incubées avec de l'ATP. Lorsque l'ATP est hydrolysée en ADP, l'ADP induit alors l'agrégation des plaquettes

NHANES : National Health and Nutrition Examination Survey.

Perturbateur endocrinien (1-OHP): Molécule qui mime, inhibe ou modifie l'action d'une hormone et perturbe le fonctionnement normal d'un organisme

Polynucléaires neutrophiles (PNN): Cellules sanguines circulantes qui interviennent dans l'inflammation.

Publications de référence

1 Ryan PB. et al. (2007). Using biomarkers to inform cumulative risk assessment. *Environ Health Perspect*;115 (5): 833-40.

2 Santonicola S. et al. (2017). Comparative study on the occurrence of polycyclic aromatic hydrocarbons in breast milk and infant formula and risk assessment. *Chemosphere*;175 : 383-90.

3 Sun H. et al. (2017). Dose-response relationship between urinary polycyclic aromatic hydrocarbons metabolites and urinary 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine in a Chinese general population. *Chemosphere*;174 :506-14.

4 Teil MJ et al. (2016). Endocrine disruptive compounds in gaseous and particulate outdoor air phases according to environmental factors. *Chemosphere*;146 : 94-104.

5 Gollenberg AL et al.(2015). In utero exposure to cigarette smoking, environmental tobacco smoke and reproductive hormones in US girls approaching puberty. *Horm Res Paediatr*;83 (1):36-44.

6 Rosofsky A et al. (2017).Exposure to multiple chemicals in a cohort of reproductive-aged Danish women. *Environ Res*;154:73-85.

7 Soehnlein O. (2012).Multiple roles for neutrophils in atherosclerosis. *Circ Res*;110 (6):875-88.

8 Pope CA. et al. (2016). Exposure to fine particulate air pollution is associated with endothelial injury and systemic inflammation. *Circ Res*;119 (11):1204-14.

Revues de la littérature

Haines DA. et al. (2016) An overview of human biomonitoring of environmental chemicals in the Canadian health measures survey: 2007-2019. *Int J Hyg Environ Health*; <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijheh.2016.08.002>.

Ewa B, Danuta MS. Polycyclic aromatic hydrocarbons and PAH-related DNA adducts. *J Appl Genet* 2016; doi:10.1007/s13353-016-0380-3.

Yang L. et al. (2017). Biomarkers of the health outcomes associated with ambient particulate matter exposure. *Sci Total Environ*;579 ():1446-59.

Liens d'intérêts :

Les auteurs déclarent n'avoir aucun lien d'intérêt.

anses

agence nationale de sécurité sanitaire
alimentation, environnement, travail



Connaître, évaluer, protéger

Bulletin de veille BVS scientifique

Édition scientifique • Bulletin de veille n° 33 • Avril 2018
Notes d'actualité scientifique

Pathologies

Particules fines et diabète : un lien causal

Laurence VERNIS | laurence.vernis@curie.fr

Inserm - UMR3348 CNRS/Institut Curie - Orsay

Mots clés : Diabète, inflammation, particules fines, résistance à l'insuline, stress oxydant

La prévalence de l'obésité et du diabète de type 2 dans la population générale a augmenté de manière spectaculaire au cours des dernières générations. Les facteurs environnementaux, qui ont également fortement évolué au cours des dernières années, pourraient donc participer à ce phénomène épidémiologique. Le diabète cliniquement avéré est précédé par une longue période de perturbations de la glycémie*, pourtant bien souvent sous-évaluée, et dont les déterminants potentiels sont peu étudiés. Ainsi, une augmentation de la glycémie à jeun est statistiquement associée au développement du diabète, mais aussi de maladies cardiovasculaires et à la démence. La pollution par les particules fines a été récemment évoquée comme un risque émergent de désordres métaboliques, dont les perturbations de la glycémie, et est associée à un risque de diabète accru. Les mécanismes sous-jacents responsables de cette association sont cependant méconnus. La réaction inflammatoire est essentielle, à la fois dans la réponse aux particules et dans la dérégulation de la glycémie.

Le premier article s'intéresse au lien entre une exposition aux particules fines de diamètre inférieur à 2,5 µm (PM_{2,5}) et des perturbations de la glycémie à jeun, et suggère que la méthylation* d'au moins un gène candidat impliqué dans l'inflammation, pourrait assurer ce lien.

Le second article montre une diminution de la sensibilité à l'insuline* après exposition à des particules fines PM_{2,5}, médiée par la génération de stress oxydant* dans la muqueuse pulmonaire, épaissie chez des personnes obèses.

Pollution de l'air aux particules fines et glycémie à jeun chez des sujets non-diabétiques : associations et relations épigénétiques sur une période de 2000 à 2011

Peng C. et al. (2016). Particulate Air Pollution and Fasting Blood Glucose in Nondiabetic Individuals: Associations and Epigenetic Mediation in the Normative Aging Study, 2000-2011. *Environmental health perspectives*, vol.124: p.1715-1721

Résumé

Les auteurs ont étudié la glycémie à jeun et la méthylation de l'ADN de quatre gènes impliqués dans la réaction inflammatoire, *IFN-γ*, *IL-6*, *ICAM-1*, and *TLR-2*, chez 551 individus non-diabétiques, entre 2000 et 2011. En parallèle, ils ont mesuré la concentration ambiante en PM_{2,5} au domicile de chaque participant à l'étude, sur des périodes de un, sept ou 28 jours précédant chaque visite médicale donnant lieu aux prélèvements. La moyenne des glycémies à jeun était de 99,8 mg/dL, et 18% des participants présentaient une perturbation de cette valeur lors de leur toute première visite (100-125 mg/dL). Une augmentation de l'interquartile* après exposition aux PM_{2,5} un, sept, et 28 jours, a été associée à une augmentation de la glycémie à jeun, de moyennes 0.57 mg/dL, 1.02 mg/dL et 0.89 mg/dL respectivement. Par ailleurs, des concentrations de PM_{2,5} élevées pendant un, sept, et 28 jours ont été associées à des perturbations de la glycémie à jeun remarquablement plus nombreuses (+13%, + 27% et +32% respectivement) chez ces individus non-diabétiques.

Finalement, une corrélation négative a été observée entre l'exposition aux PM_{2,5} et la méthylation du promoteur du

gène *ICAM-1* mais pas d'autres gènes testés. L'analyse statistique par médiation* indique que cette baisse de méthylation rend compte de 9% de l'association identifiée entre exposition pendant 28 jours aux PM_{2,5} et une augmentation de la glycémie à jeun.

Commentaire

Chez les individus non-diabétiques, la glycémie à jeun est un élément de prédiction du risque de diabète (1). La relation entre des perturbations de la glycémie à jeun et l'exposition à des particules fines est maintenant régulièrement suggérée, alors que peu d'attention avait jusque-là été portée aux dysfonctionnements glycémiques de moindre ampleur, qui ne constituent pas un diabète avéré. Un des intérêts de cette étude est de viser à identifier des individus dans la population générale, non-diabétiques, mais susceptibles de présenter des perturbations de la glycémie, avec une glycémie à jeun proche de la limite supérieure. Elle revêt donc un intérêt pronostique, puisqu'elle identifie une glycémie à jeun dans la fourchette haute et sera plus facilement perturbée par l'exposition aux particules.

Plusieurs études ont déjà identifié que des concentrations élevées en particules fines sont associées avec une augmentation de l'expression de marqueurs endothéliaux, dont la protéine ICAM-1 est le reflet. Or, les voies de l'inflammation sont activées en présence de stress oxydant. A l'inverse la réaction inflammatoire génère également du stress oxydant et ces deux processus physiologiques sont intimement liés (2). Il est probable que la surexpression de la protéine ICAM-1 soit corrélée à la présence de stress oxydant dans le cas d'une exposition aux PM_{2,5}, comme cela a été mesuré dans de nombreuses études, dont celle

présentée dans l'article de Haberzetti et al. (2016). La méthylation du promoteur de *ICAM-1* n'a un rôle que partiel dans l'association entre $PM_{2,5}$ et perturbations de la glycémie. Il est donc probable que la méthylation au niveau d'autres promoteurs de gènes soit impliquée, en lien ou non avec *ICAM-1*, et mériterait attention.

Enfin cette étude utilise une approche assez novatrice en épidémiologie, la médiation*, qui consiste à relier une variable indépendante, ici l'exposition aux particules $PM_{2,5}$ à une variable dépendante, ici la glycémie à jeun des participants, par l'invocation d'une troisième variable, dite médiatrice, ici la méthylation du promoteur de *ICAM-1*. Cela permet d'analyser finement l'influence de facteurs environnementaux extérieurs sur des perturbations métaboliques, en identifiant les voies métaboliques impliquées.

L'exposition aux particules fines en cas de pollution de l'air provoque une résistance à l'insuline dans les vaisseaux sanguins par génération de stress oxydant.

HABERZETTI P. et al. (2016). Exposure to Fine Particulate Air Pollution Causes Vascular Insulin Resistance by Inducing Pulmonary Oxidative Stress. *Environmental health perspectives*, vol.124: p.1830-1839

Résumé

Les auteurs ont utilisé des souris nourries ou non avec une alimentation très riche en graisses (10-13% ou 60% kcal), traitées par l'antioxydant 4-hydroxy-2,2,6,6-tetramethylpiperidine-1-oxyl (TEMPOL) ou des souris surexprimant la superoxyde dismutase extracellulaire (ecSOD) dans les poumons. Après exposition des animaux à des particules fines $PM_{2,5}$ à $20\mu\text{g}/\text{m}^3$ pendant 9 et 30 jours, l'inflammation et la sensibilité à l'insuline ont été mesurées dans la circulation générale et dans les organes cibles.

Dans le cadre d'une alimentation normale, une exposition de 9 jours à raison de 6h par jour aux particules à $20\mu\text{g}/\text{m}^3$ s'est révélée suffisante pour supprimer la phosphorylation dépendante de l'insuline vasculaire d'Akt* et de eNOS, et pour diminuer les niveaux de l'inhibiteur de NF- κ B dans l'aorte. Un traitement par le TEMPOL ou la surexpression de l'ecSOD a permis de prévenir la résistance à l'insuline au niveau des vaisseaux sanguins et l'inflammation, provoquées par l'exposition aux particules fines concentrées. L'obésité des souris liée à une alimentation très riche en graisses n'a pas eu d'influence sur ces réactions après neuf jours.

Dans le cadre d'une alimentation normale, l'exposition aux particules pendant 30 jours à raison de 6h par jour s'est accompagnée d'une diminution de la phosphorylation dépendante de l'insuline d'Akt dans les poumons, le cœur et l'aorte, mais non dans les muscles squelettiques, le tissu adipeux, ni le foie, et la tolérance au glucose et l'adiposité n'ont pas été modifiés. En revanche, chez des souris soumises à une diète hyper lipidique, l'exposition aux particules pendant 30 jours s'est accompagnée d'une suppression de la phosphorylation de la nitric oxide synthase (eNOS) dépendante de l'insuline dans le muscle

squelettique, d'une inflammation du tissu adipeux et d'une intolérance au glucose.

Les résultats obtenus indiquent qu'une exposition courte de neuf jours aux $PM_{2,5}$ provoque une résistance à l'insuline au niveau des vaisseaux sanguins ainsi qu'une réaction inflammatoire, par un mécanisme impliquant la génération de stress oxydant au niveau de la muqueuse pulmonaire. En effet, l'élimination du superoxyde dans les poumons atténue les effets observés. Le stress oxydant et la peroxydation lipidique ont également été augmentés. Les auteurs proposent un modèle selon lequel les particules $PM_{2,5}$ déposées dans les poumons génèrent des espèces réactives de l'oxygène (ROS), qui à leur tour interfèrent avec la signalisation de l'insuline dans la circulation sanguine, en atténuant les phosphorylations d'Akt et d'eNOS dans les vaisseaux sanguins. Ils suggèrent finalement que la suppression de la signalisation par l'insuline circulante pourrait accélérer la mise en place d'une résistance à l'insuline dans le système général, en particulier chez des individus obèses.

Commentaire

Ce travail établit un lien formel entre une exposition de courte durée (9 jours et 30 jours) aux particules fines ($2,5\text{nm}$) et l'apparition de scénarios diabétiques, par un mécanisme générant du stress oxydant. Cet article soulève la question de comment le stress oxydant généré au niveau de la muqueuse pulmonaire peut avoir des effets à distance des poumons, et dans l'organisme entier. Il est possible que les espèces réactives générées au niveau des poumons diffusent et se retrouvent dans des tissus distants. Une autre possibilité est que les particules $PM_{2,5}$ elles-mêmes puissent être transportées, et se retrouver à distance de la muqueuse pulmonaire, et générer ainsi du stress oxydant dans leur nouvelle localisation. La suppression des effets des particules $PM_{2,5}$ par surexpression d'antioxydants (TEMPOL ou SOD extracellulaire) est plutôt en faveur de la première hypothèse. Certains auteurs avaient suggéré que des lipides oxydés pourraient diffuser des poumons vers les tissus périphériques (3), mais cette question reste à élucider. Ce questionnement est d'importance, puisqu'il permettrait de mieux comprendre les mécanismes mis en œuvre dans l'acquisition de la résistance à l'insuline, mais aussi parce que le stress oxydant est étroitement associé à l'apparition d'autres maladies, neurodégénératives ou de cancers.

Il est particulièrement informatif de noter que les valeurs d'exposition utilisées au cours de ce travail, $82\mu\text{g}/\text{m}^3$ pendant six heures, soit approximativement $20\mu\text{g}/\text{m}^3$ par 24h, sont dans la même gamme que celles auxquelles les populations humaines sont régulièrement exposées dans les villes ($5-50\mu\text{g}/\text{m}^3$ dans les villes américaines, en dessous des valeurs régulièrement observées en Inde et en Chine ($>100\mu\text{g}/\text{m}^3$, (4)). Par ailleurs, l'agence de protection environnementale américaine (EPA) préconise une valeur standard de $12\mu\text{g}/\text{m}^3$. Ainsi la sensibilité des souris est cohérente avec des données chez l'Homme montrant qu'une simple augmentation de $10\mu\text{g}/\text{m}^3$ en moyenne augmente la prévalence du diabète de 1% chez des personnes en exposition chronique dans le Sud Est des Etats-Unis (5). Ainsi, cette étude montre clairement l'impact

des PM_{2,5} dans l'apparition du diabète, aux doses auxquelles sont classiquement exposées les populations des grandes villes.

CONCLUSION GÉNÉRALE

La protéine ICAM-1 dont l'expression est analysée dans le premier article, est impliquée dans l'adhésion des leucocytes et leur migration pendant la réaction inflammatoire. Il se pourrait donc qu'une exposition aux PM_{2,5} provoque une inflammation locale au niveau de la muqueuse pulmonaire et promeuve la circulation de leucocytes dans le sang, migrant vers des tissus distants. Cette donnée est sans doute un élément d'explication à la question posée dans l'article d'Haberzetti et al. (2016): comment le stress oxydant peut-il diffuser à partir de la zone primordiale où il est généré. De plus, ICAM-1 facilite la migration des leucocytes, en particulier vers le tissu adipeux dont l'inflammation a effectivement été mise en évidence dans ce deuxième article. Ces deux études s'inscrivent dans une démarche d'analyse fine de perturbations de la glycémie (glycémie à jeun et résistance à l'insuline) après une exposition aux particules fines. Ces travaux présentent des éléments factuels permettant de mettre en évidence sans ambiguïté le rôle causal d'une exposition aux particules fines dans l'apparition de perturbations de la glycémie, qui sont elles-mêmes précurseurs du diabète sur un temps plus long que le temps de ces études.

GENERAL CONCLUSION

ICAM-1 protein, which expression is being studied in the first article, plays a role in leukocytes adhesion and transmigration from the circulation to the target tissue during inflammatory responses. It is thus possible that PM_{2,5} exposure is responsible for local inflammation of the lungs, and promotes blood leukocytes transmigration from the circulation to distant, target tissues. This might provide an explanation for questioning raised in the second article: how can oxidative stress diffuse efficiently from lungs to the rest of the body. Moreover, ICAM-1 specifically promotes transmigration of leukocytes to adipose tissue which inflammation was indeed evidenced in the second article. These two studies both analyse of subtle perturbations of glycemia (fasting blood glucose and insulin resistance) following PM_{2,5} exposure. They provide objective facts demonstrating a causative role of PM_{2,5} exposure in impaired glucose metabolism that obviously can lead to diabetes on a longer period.

Lexique

Akt: Enzyme (kinase) qui activé lors de son interaction avec les phospholipides membranaires. Elle intervient dna les réponses cellulaires telles que la croissance cellulaire, prolifération, migration et angiogénèse.

Glycémie: Concentration du glucose dans le sang.

Insuline : Hormone sécrétée par le pancréas, et jouant un rôle majeur dans le contrôle de la glycémie.

Interquartile : En statistique, l'écart interquartile mesure la dispersion des données, entre le troisième et le premier quartile.

Médiation: En statistique, une médiation décrit un processus à travers lequel une variable indépendante est susceptible d'influencer une variable dépendante par l'intervention d'une troisième variable, dite variable médiatrice (6). Dans ce cas, la variable indépendante est à l'origine du déclenchement de l'action de la variable médiatrice ou de son intensité, qui elle-même influence la réponse (variable dépendante).

Méthylation: Addition d'un groupement méthyle. Une augmentation de la méthylation des promoteurs de gènes a pu être associée avec une diminution de l'activité transcriptionnelle

Stress oxydant : Excès d'espèces réactives de l'oxygène dans un environnement donné (cellules, circulation sanguine, tissus, etc...).

Publications de référence

1 Tirosh A, et al. Normal fasting plasma glucose levels and type 2 diabetes in young men. *N Engl J Med* 2005; **353**:1454-1462.

2 Biswas SK.. Does the Interdependence between Oxidative Stress and Inflammation Explain the Antioxidant Paradox? *Oxid Med Cell Longev* 2016;:5698931.

3 Kampfrath T, et al. Chronic fine particulate matter exposure induces systemic vascular dysfunction via NADPH oxidase and TLR4 pathways. *Circ Res* 2011; **108**:716-726.

4 Brook RD, et al. American Heart Association Council on E, Prevention CotKiCD, Council on Nutrition PA, Metabolism. Particulate matter air pollution and cardiovascular disease: An update to the scientific statement from the American Heart Association. *Circulation* 2010; **121**:2331-2378.

5 Pearson JF, et al. Association between fine particulate matter and diabetes prevalence in the U.S. *Diabetes Care* 2010; **33**:2196-2201.

6 Baron RM, Kenny DA. The moderator-mediator variable distinction in social psychological research: conceptual, strategic, and statistical considerations. *J Pers Soc Psychol* 1986; **51**:1173-1182.

Liens d'intérêts :

Les auteurs déclarent n'avoir aucun lien d'intérêt

Epidémiologie de la sarcoïdose par l'étude de certificats de décès : facteurs de risque environnementaux et professionnels

Orianne DUMAS | orianne.dumas@inserm.fr

Inserm - Vieillesse et maladies chroniques. Université Versailles St-Quentin-en-Yvelines - Villejuif

Mots clés : Environnement, épidémiologie, mortalité, sarcoïdose, travail

La sarcoïdose est une maladie inflammatoire caractérisée par la formation de granulomes*, qui affecte principalement les poumons et le système lymphatique, mais peut se manifester au niveau d'autres organes comme la peau, les yeux, le cœur ou le système nerveux (1). Elle touche les individus de tout âge, avec une incidence de 10 à 35 cas pour 100 000 personnes-années. Alors que la sarcoïdose a des formes asymptomatiques avec une rémission spontanée chez certains patients, elle devient chronique avec des atteintes sévères dans 30 % des cas. Les formes les plus graves de la maladie pourraient causer le décès de 1 à 5 % des patients.

Bien que les causes exactes de la sarcoïdose restent inconnues, il est maintenant admis qu'en plus de déterminants génétiques, des sources environnementales multiples pourraient initier la réponse granulomateuse qui caractérise cette pathologie (2). Cependant, les recherches étiologiques sur la sarcoïdose n'ont pas encore permis l'identification d'antigènes* qui pourraient être mis en cause dans son développement. Cette pathologie étant relativement rare et difficile à diagnostiquer, peu d'études épidémiologiques ont examiné ses déterminants et notamment les facteurs de risque professionnels ou environnementaux. Ainsi, des études utilisant de larges bases de données telles que celles issues de registres de mortalité ont un intérêt pour décrire les excès de mortalité dans certaines sous-populations, et mettre en évidence de possibles facteurs de risque de la maladie. C'est l'objet des deux articles présentés dans cette note, portant sur des études réalisées en France et aux Etats-Unis.

Mortalité liée à la sarcoïdose en France : une analyse en cause multiples

Jamilloux Y. et al. (2016). Sarcoidosis-related mortality in France: a multiple-cause-of-death analysis. *Eur Respir J*, vol. 48(6):p.1700-9.

Résumé

Cet article porte sur l'analyse de données recueillies par le CépiDC (centre d'épidémiologie sur les causes médicales de décès) pour décrire la mortalité liée à la sarcoïdose en France entre 2002 et 2011, selon l'âge, le sexe, la période d'étude et la région. L'ensemble des certificats de décès enregistrés en France pendant cette étude, soit 5 289 090 décès (données exhaustives disponibles dans la base de données du CépiDC), ont été étudiés. Les taux de mortalité standardisés sur l'âge ont été calculés en prenant pour référence l'âge de la population générale française en 2006. Au total, 1 662 décès liés à la sarcoïdose ont été identifiés à partir des certificats ; la sarcoïdose y était listée comme la cause initiale de décès* (n=801) ou comme autre maladie causant ou contribuant au décès (n=861). L'âge moyen au décès lié à la sarcoïdose était de 70,4 ans, alors que l'âge moyen au décès dans la population générale était de 76,2 ans. Le taux de mortalité standardisé était de 3,6/million, et augmentait significativement au cours de la période étudiée. Ce taux était similaire chez les hommes et les femmes ; cependant, les décès liés à la sarcoïdose étaient plus souvent observés chez les hommes avant l'âge de 65

ans, et plus souvent chez les femmes après cet âge. Lorsque la sarcoïdose était listée comme étant la cause initiale de décès, les autres causes les plus fréquemment listées étaient les maladies respiratoires chroniques, les maladies cardiovasculaires et les maladies infectieuses. Des différences géographiques étaient observées pour le taux de mortalité, variant de 1,98 à 5,40 cas par million selon les départements. Un taux de mortalité plus élevé était observé dans le nord de la France, alors que les taux les plus faibles étaient observés dans les régions du centre.

Commentaire

L'étude de Jamilloux et al. apporte des données épidémiologiques importantes sur la mortalité liée à la sarcoïdose en France à partir d'une base de données exhaustive couvrant l'ensemble du territoire. Une augmentation du taux de mortalité lié à la sarcoïdose a été observée durant la période d'étude, comme cela a été décrit dans d'autres pays ; cependant, une meilleure reconnaissance de la maladie au cours du temps est probablement à l'origine de cette augmentation. De plus, cette étude montre pour la première fois des disparités géographiques en France quant à cette pathologie. Les données disponibles ne portant que sur la mortalité, une influence sur ces résultats de facteurs socio-économiques liés par exemple à des disparités sociales dans l'accès aux soins ne peut pas être exclue. Il est cependant peu probable que de tels facteurs soient la seule explication pour les

disparités géographiques observées. Un gradient nord-sud dans l'occurrence de la sarcoïdose a été suggéré dans plusieurs études, à différentes échelles (continent, ou pays, par exemple en Suède (3)). Parmi les hypothèses formulées pour expliquer ce gradient, un rôle de l'environnement plus froid, pouvant favoriser des infections virales dans les premières années de vie (période de développement du système immunitaire), a été suggéré (4). Cependant, dans d'autres pays comme en Irlande (5) ou aux Etats-Unis (6), des différences géographiques ont été observées pour la prévalence ou l'incidence de la sarcoïdose, mais elles ne correspondaient pas à un gradient nord-sud. Dans l'ensemble, ces résultats suggèrent une influence de facteurs environnementaux, professionnels (2) ou comportementaux (7) sur la maladie. Une limite des études basées sur les certificats de décès est une probable sous-représentation des cas de sarcoïdose les moins sévères, ou en rémission plusieurs années avant le décès. L'absence de données sur des facteurs de risque individuels, tels que l'exposition professionnelle, non disponibles dans la base de données du CépIDC, était également une limite de l'étude de Jamilloux et al. L'étude de Liu et al., conduite aux Etats-Unis, permet d'apporter plus d'éléments sur ce dernier point.

Association entre expositions professionnelles et sarcoïdose : analyse à partir des certificats de décès aux États-Unis, 1988-1999

Liu H. et al. (2016). Association Between Occupational Exposures and Sarcoidosis: An Analysis From Death Certificates in the United States, 1988-1999. *Chest*, vol.150(2): p.289-98.

Résumé

En utilisant des informations disponibles sur les certificats de décès aux États-Unis, cette étude avait pour objectif d'évaluer les associations entre les expositions professionnelles et la mortalité liée à la sarcoïdose. L'analyse a porté sur l'ensemble des individus décédés entre 1988 et 1999 dans 25 États américains, soit 7 118 535 décès. Le métier principal est renseigné sur les certificats de décès aux États-Unis, et codé selon une classification standard (« US bureau of census »). Pour évaluer les expositions professionnelles, une matrice emplois-expositions* a été mise en place spécifiquement pour cette étude par un hygiéniste industriel, pour lier les codes métiers à une évaluation des expositions potentielles. Les expositions professionnelles ou les métiers pour lesquels un lien avec la sarcoïdose a été suggéré auparavant (2,7) ont été étudiés. Cela comprenait, pour les expositions spécifiques : l'exposition à des métaux, des matières organiques, des fumées, ou des animaux ; et pour les métiers : des professions de santé, de vente ou dans l'administration. Un décès était classé comme « lié à la sarcoïdose » si la maladie était listée parmi les causes multiples de décès ou comme cause initiale de décès. Les expositions professionnelles des individus dont le décès était lié à la sarcoïdose étaient comparées à celles d'individus dont le décès n'était pas lié à cette maladie. Les

associations étaient exprimées sous forme d'odds ratio de mortalité (MOR*), ajustés sur l'âge, le sexe, l'origine ethnique, l'année du décès, et les autres expositions professionnelles. Au total, 3 393 décès étaient liés à la sarcoïdose (0,048%), dont 1 579 pour lesquels la sarcoïdose était la cause initiale de décès. Un risque plus élevé de décès lié à la sarcoïdose était observé (MOR ajusté : 1,52 ; IC 95% = [1,35-1,71]) chez les individus avec au moins une des expositions professionnelles ou un des métiers étudiés. Plus spécifiquement, les expositions significativement associées à un risque accru de décès lié à la sarcoïdose étaient une exposition aux métaux (MOR : 1,41 [1,08-1,85]), le fait d'avoir eu une profession de santé (MOR : 1,61 [1,14-2,28]), d'enseignement (MOR : 1,90 [1,34-2,71]), de vente (MOR : 1,23 [1,03-1,48]), d'employé de banques (MOR : 1,71 [1,22-2,40]) ou une profession administrative (MOR : 1,86 [1,59-2,18]). Les auteurs concluaient que des expositions et métiers qui avaient auparavant été suggérés comme à risque pour la sarcoïdose étaient confirmés dans cette étude portant sur la mortalité. De manière générale, les associations étaient plus marquées chez les femmes que chez les hommes.

Commentaire

Les résultats de l'étude de Liu et al. étayaient l'hypothèse d'un lien entre certaines expositions professionnelles et la sarcoïdose et/ou la mortalité liée à la maladie. Ce lien avait déjà été examiné, notamment dans le cadre de l'étude cas-témoin (A Case-Control Etiologic Sarcoidosis Study (ACCESS)* en 2004 (2). De plus, l'étude montre pour la première fois les associations entre les expositions professionnelles et les phénotypes de sarcoïdose les plus sévères, menant potentiellement à une mortalité prématurée. Certaines des associations décrites dans l'étude étaient attendues, comme le lien avec des métiers impliquant des expositions par voie respiratoire à des agents tels que les métaux, plus fréquentes chez les hommes. Pour d'autres métiers associés à un risque accru de mortalité lié à la sarcoïdose, comme l'enseignement, la vente, la banque ou l'administration, l'agent étiologique potentiel est plus difficile à établir. Ceci concerne plus fréquemment les femmes. Certaines de ces associations ont cependant été observées dans d'autres études (2,9). Liu et al., et d'autres auteurs auparavant (10) ont noté que ces métiers ont en commun le contact fréquent avec d'autres individus. Chez les personnes travaillant en environnement clos, la qualité de l'air intérieur, et notamment l'environnement microbien (moisissures, expositions bactériennes) pourraient également avoir un rôle dans l'étiologie de la sarcoïdose (8,11). Les différences dans le type d'exposition associé à la mortalité liée à la sarcoïdose entre hommes (inhalation) et femmes (contact avec d'autres individus) peut être mis en parallèle avec des différences observées dans d'autres études, dans le type d'organes touchés dans les cas de sarcoïdose chez les hommes (poumons, système cardiaque) et les femmes (peau, yeux). Cependant le lien entre le type d'exposition et les organes touchés n'a pas pu être étudié directement dans l'étude de Liu et al. Une des limites de cette étude était l'absence d'information sur l'histoire professionnelle complète des individus. En effet, seul le métier principal

était renseigné sur le certificat de décès. Il est ainsi possible que le métier étudié soit postérieur au diagnostic de sarcoïdose, ce qui pourrait être à l'origine de certaines associations non attendues. Une matrice emplois-expositions était utilisée pour évaluer les expositions professionnelles ; bien que cette matrice n'ait pas été formellement validée, cet outil d'estimation représentait une force comparativement à certaines études antérieures basées sur la déclaration des sujets, qui est potentiellement source de biais de mémoire.

CONCLUSION GÉNÉRALE

Des recherches récentes portant sur l'épidémiologie et l'étiologie de la sarcoïdose par l'étude de certificats de décès apportent de nouveaux éléments en faveur de l'existence de facteurs de risques environnementaux et professionnels pour cette pathologie. Ces résultats semblent étayer l'hypothèse selon laquelle la sarcoïdose est liée à une réponse immunologique exagérée à des antigènes, encore non connus et probablement de sources multiples. Il est important, tant pour la communauté scientifique que médicale, d'avoir connaissance de résultats récents sur les causes potentielles de cette maladie, qui peut présenter des formes chroniques, sévères et difficiles à traiter. Plus de recherches, notamment par de nouvelles études épidémiologiques cas-témoins ou longitudinales (cohortes), ou par l'utilisation des bases de données de santé existantes pourraient contribuer à une meilleure connaissance de l'étiologie de la sarcoïdose, et apporter des éléments pour sa prévention. Le recueil de données sur les facteurs de risque professionnels dans ces études, mais aussi par les cliniciens traitant des patients avec une sarcoïdose, semble particulièrement important.

GENERAL CONCLUSION

Recent research on sarcoidosis epidemiology and etiology using analysis of death certificates provides new insight into environmental and occupational risk factors for the disease. Results support the role in sarcoidosis of an exaggerated immune response to yet unidentified antigens, probably from multiple sources. It is of importance for both the scientific and medical community to be aware of recent results on potential causes for sarcoidosis, which can be a chronic, severe and difficult to treat pathology. More research is needed to determine the etiology of sarcoidosis and suggest prevention strategies, through new epidemiological studies with a case-control or longitudinal (cohort) design, or using existing databases. Collecting data on occupational risk factors in such studies, but also in clinical practice when treating patients with sarcoidosis, seem particularly important.

Lexique

ACCESS : A Case-Control Etiologic Sarcoidosis Study (étude cas-témoin américaine sur l'étiologie de la sarcoïdose)

Antigène : Substance extérieure à l'organisme capable d'induire une réponse immunitaire ou de se lier de façon spécifique aux produits d'une réponse immunitaire préalable (anticorps ou récepteurs des lymphocytes T).

Cause initiale de décès : Cause à l'origine du processus morbide ayant conduit au décès (aussi appelée « cause principale du décès »).

Granulome : Conglomérat de cellules inflammatoires.

Matrice emplois-expositions : Tableau donnant la correspondance entre des intitulés d'emplois et le niveau d'exposition à certains agents ou nuisances présentant potentiellement un risque pour la santé.

MOR (Mortality Odds Ratio): Mesure statistique exprimant le degré d'association entre une exposition et le risque de mortalité.

Publications de référence

1 **Valeyre D, Prasse A, Nunes H, et al.** Sarcoidosis. *Lancet* 2014;383(9923):1155–67.

2 **Newman LS, Rose CS, Bresnitz EA, et al.** A case control etiologic study of sarcoidosis: Environmental and occupational risk factors. *Am J Respir Crit Care Med* 2004;170(12):1324–30.

3 **Arkema E V, Grunewald J, Kullberg S, et al.** Sarcoidosis incidence and prevalence: a nationwide register-based assessment in Sweden. *Eur Respir J* 2016;7(2):113–8.

4 **Kurata A.** Hygiene hypothesis: why south/north geographical differences in prevalence of asthma and sarcoidosis? *Med Hypotheses* 2012;79(2012):363–4

5 **Nicholson TT, Plant BJ, Henry MT, et al.** Sarcoidosis in Ireland: Regional differences in prevalence and mortality from 1996-2005. *Sarcoidosis Vasc Diffus. Lung Dis* 2010;27(2):111–20.

6 **Dumas O, Abramovitz L, Wiley AS, et al.** Epidemiology of Sarcoidosis in a Prospective Cohort Study of U.S. Women. *Ann Am Thorac Soc* 2016;13(1):67–71.

7 **Cozier YC, Coogan PF, Govender P, et al.** Obesity and Weight Gain in Relation to Incidence of Sarcoidosis in US Black Women. *Chest* 2015;147(4):1086–93.

8 **Newman KL, Newman LS.** Occupational causes of sarcoidosis. *Curr Opin Allergy Clin Immunol* 2012;12(2):145–50.

9 **Kucera GP, Rybicki B a., Kirkey KL, et al.** Occupational risk factors for sarcoidosis in African-American siblings. *Chest* 2003;123(5):1527–35.

10 **Barnard J, Rose C, Newman L, et al.** Job and industry classifications associated with sarcoidosis in A Case-Control Etiologic Study of Sarcoidosis (ACCESS). *J Occup Environ Med* 2005;47(3):226–34.

11 Laney AS, Cragin LA, Blevins LZ, et al. Sarcoidosis, asthma, and asthma-like symptoms among occupants of a historically water-damaged office building. *Indoor Air* 2009;19(1):83–90.

Liens d'intérêts :

Les auteurs déclarent n'avoir aucun lien d'intérêt.

Exposition pré- et post-natale aux examens médicaux diagnostiques et risque de cancer du cerveau chez l'enfant et l'adolescent

Helene BAYSSON | helene.baysson@irsn.fr

IRSN - Laboratoire d'épidémiologie – Fontenay-aux-Roses

Mots clés : Cancer, cerveau, pédiatrie, radiations ionisantes, scanner

Les cancers du cerveau représentent les tumeurs solides les plus fréquentes chez l'enfant. Les facteurs de risque connus sont quelques rares syndromes génétiques et une exposition élevée de la tête et du cou aux rayonnements ionisants. Récemment, plusieurs études épidémiologiques de cohorte ont montré un risque plus élevé de cancer du cerveau chez les enfants ayant eu plusieurs scanners de la tête (Pearce, 2012 ; Huang, 2014). Ces études ont été critiquées en raison de la possible existence d'un biais d'indication : un cancer survenu après l'exposition radiologique au scanner pourrait être, au moins en partie, attribuable aux examens nécessaires réalisés suite au diagnostic de la pathologie. Dans l'étude de Tettamanti et al, la méthodologie est différente : il s'agit d'une étude cas-témoins qui compare l'exposition médicale passée aux rayonnements ionisants chez des enfants atteints d'un cancer du cerveau et chez des enfants indemnes de la maladie.

Conditions médicales prénatales et postnatales et risque de tumeurs cérébrales chez les enfants et les adolescents : étude cas - témoins internationale

Tettamanti G. et al.(2017). Prenatal and postnatal medical conditions and the risk of brain tumours in children and adolescents : an international multicenter case control study, *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*, vol.26(1): p.110-115

Résumé

L'analyse présentée est issue de l'étude Cefalo qui est une étude cas-témoins menée au Danemark, en Norvège, en Suède et en Suisse et dont l'objectif principal est d'étudier la relation entre l'usage du téléphone mobile et le cancer du cerveau chez l'enfant et l'adolescent (Aydin, 2011). Les données recueillies dans le cadre de cette étude sont analysées pour étudier le risque de cancer du cerveau en fonction de l'exposition prénatale et postnatale aux rayonnements ionisants, ainsi qu'aux ultrasons lors d'examens médicaux tels que des radios dentaires ou scanner réalisés chez l'enfant. Les cas de cancer du cerveau sont survenus chez des enfants âgés de sept à dix-neuf ans, et diagnostiqués entre 2004 et 2008. Ils ont été inclus à partir des données des registres de cancers, des rapports de cliniques oncologiques pédiatriques et des rapports hospitaliers de neurochirurgie. Deux témoins par cas ont été sélectionnés à partir des listes de recensement de la population et appariés sur l'âge, le sexe et la zone géographique. Les expositions passées ont été reconstituées au cours d'une interview en face à face avec l'enfant et au moins l'un des parents. Les expositions concernaient les examens diagnostiques médicaux pré-nataux et post-nataux (radiographies, examens scanners, IRM et échographies), les

blessures à la tête, la jaunisse, la fièvre survenue pendant les douze premières semaines de vie et le fait d'avoir eu une anesthésie générale. Au total 352 cas et 646 témoins ont été inclus dans l'étude. Les garçons étaient plus nombreux que les filles parmi les cas. Près de 40 % des cas sont en Suède, et la majorité des cas ont au moins un des deux parents avec un niveau d'étude élevé. Aucune association significative a été observée entre le risque de cancer du cerveau et l'exposition prénatale aux ultrasons et aux rayonnements ionisants (échographies, radios et examens scanner pendant la grossesse) : l'odds-ratio (OR) était de 0,96 (Intervalle de confiance IC à 95% [0,54 ; 1,68]). Un risque plus faible (mais non statistiquement significatif) de cancer du cerveau a été observé chez les enfants ayant eu un examen radiologique ou un scanner, toutes zones anatomiques confondues (OR=0,76, IC à 95% [0,58 ; 1,01]). Pour tous les types d'examens de la tête et du cou confondus, aucune association n'est observée. Par contre, une association positive (mais non statistiquement significative) est observée entre le risque de cancer du cerveau et l'exposition à un scanner de la tête durant l'enfance (OR=1,86, IC à 95% [0,82 ; 4,22]). Cette association devient plus faible lorsqu'un temps de latence entre l'exposition et l'effet a été pris en compte.

Commentaire

Parmi les examens médicaux à visée diagnostique et utilisant les rayonnements ionisants, les scanners sont les plus irradiants mais diffusent des faibles doses (<100 mSv). Dans un contexte général d'augmentation de l'exposition aux rayonnements ionisants dans le cadre des examens médicaux, les scientifiques s'interrogent sur un possible risque de développer un cancer chez des personnes ayant bénéficié d'examens diagnostiques par scanographie durant

l'enfance. En effet, chez les enfants, certains tissus sont plus radiosensibles que chez les adultes (UNSCEAR, 2013). Ils ont également une espérance de vie plus longue et donc plus d'« années à risque » de développer un cancer à long terme. Plusieurs études épidémiologiques de cohorte ont d'ores et déjà montré un risque de cancer du cerveau plus élevé chez les enfants ayant eu plusieurs scanners de la tête (Pearce, 2012 ; Huang, 2014). Néanmoins ces études ont été critiquées en raison de plusieurs faiblesses méthodologiques : en particulier, elles ne comportent pas d'informations sur les indications cliniques qui ont conduit à réaliser ces scanners. Un biais par indication est ainsi suspecté dans la mesure où les examens ont pu être réalisés pour le diagnostic ou une surveillance médicale de pathologies associées à un risque élevé de cancer. L'étude de Tettamanti et al. reconstitue, à travers un questionnaire réalisé en face à face, l'exposition médicale aux rayonnements ionisants chez des enfants atteints d'un cancer du cerveau et chez des enfants indemnes de la maladie. Les résultats (bien que non statistiquement significatifs) suggèrent la possibilité d'une association entre cancer du cerveau et exposition au scanner de la tête et du cou. Ces résultats sont néanmoins à considérer avec prudence puisque les effectifs sont limités : la puissance statistique de l'étude peut être insuffisante pour détecter un risque faible. Les expositions aux examens radiologiques sont reconstituées à partir des déclarations des enfants et des parents : un biais de mémoire ne peut être écarté. La personne interrogée peut se tromper sur la date ou le type d'examen radiologique. Ce biais de mémoire peut être différentiel entre les cas et les témoins car on se rappelle davantage des examens médicaux d'un enfant malade que d'un enfant non malade. Il aurait été utile de croiser les informations recueillies par questionnaire avec celles issues de bases médico-administratives afin de les valider. En outre, aucune donnée dosimétrique n'a été collectée dans le cadre de cette étude. Le projet européen EPI-CT (« Epidemiological study to quantify risks for pediatric computerized tomography and to optimise dose »), dont les résultats sont attendus pour 2017, devrait apporter des éléments plus précis de réponse sur le risque de cancer lié à l'exposition au scanner durant l'enfance. Ce vaste projet vise à analyser les données de neuf cohortes nationales (un million d'enfants inclus) spécifiquement conçues pour analyser le risque de cancer après exposition au scanner durant l'enfance. En attendant la disponibilité de ces résultats, comme pour tout acte médical, une évaluation du bénéfice et du risque d'un examen scanner est effectuée, des règles de radioprotection s'appliquent, et, dans certaines situations, il est possible de privilégier des techniques non irradiantes comme l'échographie ou l'IRM.

CONCLUSION GÉNÉRALE

En conclusion, cette étude ne montre pas d'association entre le risque de survenue de cancer du cerveau chez l'enfant et l'adolescent et l'exposition médicale aux rayonnements ionisants pendant la période prénatale et postnatale. Néanmoins, une augmentation non significative du risque de cancer du cerveau est observée chez les enfants qui ont eu un scanner du cerveau. Ce résultat est cohérent avec les résultats déjà obtenus par les études de cohorte sur le risque de cancer après exposition au scanner pendant l'enfance. Néanmoins, dans l'étude de Tettamanti et al. cette augmentation du risque est non statistiquement significative et elle est basée sur un très faible nombre de cas.

GENERAL CONCLUSION

In conclusion, this study does not show any association between the risk of developing brain tumours in children and adolescents and the medical exposure to ionizing radiation during the prenatal and postnatal period. A higher non significant risk estimate of brain cancer, although not statistically significant, is observed for exposure to head CT scan during childhood. This result is consistent with previous results from CT scans epidemiological studies suggesting that exposure to head CT scan may be associated with the occurrence of brain tumours.

Publications de référence

Aydin D. et al. Mobile Phone Use and Brain Tumors in Children and Adolescents: A Multicenter Case-Control Study. *J Natl Cancer Inst.* 2011 ; 103 : 1264-1276

Huang WY. et al. Paediatric head CT scan and subsequent risk of malignancy and benign brain tumour: a nation-wide population-based cohort study. *Br J Cancer* 2014; 110(9):2354-60

Journy N, et al. (2015) Are the studies on cancer risk from CT scans biased by indication? Elements of answer from a large-scale cohort study in France. *Br J Cancer*, vol.112(1): p.185-193

Mathews JD, et al. Cancer risk in 680,000 people exposed to computed tomography scans in childhood or adolescence: data linkage study of 11 million Australians. *BMJ* 2013 ; 346:f2360

Pearce MS, et al. Radiation exposure from CT scans in childhood and subsequent risk of leukaemia and brain tumours: a retrospective cohort study. *Lancet* 2012 ; 380 (9840):499-505

UNSCEAR. Report of the United Nations Scientific Committee on the Effects of Atomic Radiation. UNSCEAR

2013 report. Volume II. Scientific Annex B - Effects of
radiation exposure of children. United Nations, New York.

Liens d'intérêts :

Les auteurs déclarent n'avoir aucun lien d'intérêt.

Effets des mélanges de phtalates à faibles doses sur la reproduction

Myriam BOUSLAMA | myriam.bousslama@gmail.com

INRS - Paris

Mots clés : Faibles doses, fertilité, phtalates, reproduction, risque cumulé

Les phtalates sont une famille de produits chimiques utilisés principalement comme plastifiants, présents dans de nombreux articles de consommation. Les études de toxicité ont montré que certains d'entre eux possèdent un effet perturbateur endocrinien*, et qu'ils sont toxiques pour l'appareil reproducteur mâle ou sur le développement. Des valeurs toxicologiques de référence ont ainsi été établies par l'Anses pour le di-(2-ethylhexyl)phtalate ou DEHP (0,05 mg/kg/j), le di-n-butylphtalate ou DBP (0,002 mg/kg/j) et le butylbenzylphtalate ou BBP (0,5 mg/kg/j) (1), mais ces valeurs ne prennent pas encore en compte les effets des mélanges. Les études de biosurveillance* rapportent pourtant une exposition simultanée à plusieurs phtalates. Les métabolites de ces polluants ubiquitaires ont été détectés dans les urines, le sang et le liquide amniotique de femmes enceintes, le lait maternel, et le sang du cordon ombilical de nouveau-nés dans la population générale. En France, une étude récente a montré la présence de ces molécules dans plus de 99 % des échantillons d'urines chez des femmes enceintes (2). Cette exposition ubiquitaire justifie la nécessité d'examiner les effets liés à une exposition combinée à plusieurs de ces substances, à des doses retrouvées dans la population. Cette note présente deux études *in vivo* évaluant les conséquences d'une exposition à un mélange de phtalates, à des doses faibles, sur la reproduction mâle et femelle.

Effets de l'exposition à un mélange de six phtalates jugés prioritaires, à long terme et à faible dose, sur la toxicité reproductive mâle chez le rat

Gao HT. et al. (2017). Effects of six priority controlled phthalate esters with long-term low-dose integrated exposure on male reproductive toxicity in rats. *Food Chem Toxicol*, vol.101:p.94-104.

Résumé

Cette étude a pour objectif d'évaluer l'effet d'une exposition chronique à un mélange de phtalates, à des doses environnementales, sur la reproduction mâle chez le rat. Le mélange utilisé est un mélange équivalent de diméthylphtalate ou DMP, diéthylphtalate ou DEP, DBP, BBP, DEHP, di-n-octyl phtalate ou DNOP. Des rats de sept semaines (n = 10 par groupe) sont exposés par gavage, au mélange à 0 - 1,6 - 16 ou 160 mg/kg/jour pendant 15 semaines. Après sacrifice des animaux le lendemain de la fin de l'exposition, le poids corporel et celui des organes sont mesurés. La LH* sérique est mesurée par ELISA*, et la testostérone est dosée aux niveaux sériques et testiculaires. Un examen histologique des testicules est réalisé, ainsi que l'expression des protéines impliquées dans la stéroïdogénèse*, dans le cycle cellulaire et dans l'apoptose* par western-blot*. Les résultats montrent une baisse significative de la croissance pondérale à toutes les doses au terme de l'exposition, la diminution du poids corporel étant d'environ 8 % par rapport aux témoins. Les poids relatifs du cœur et de la rate sont augmentés de manière significative pour les animaux exposés à 16 et 160 mg/kg, alors que les poids relatifs des graisses péri-rénales et des testicules sont diminués à ces deux mêmes doses. Les niveaux sériques de testostérone sont significativement diminués par rapport au

groupe contrôle, de manière dose-dépendante, alors que les niveaux de LH sont significativement augmentés dans les trois groupes exposés. L'analyse histologique montre une dégénérescence testiculaire, marquée par une désorganisation et une diminution du nombre de spermatozoïdes*. L'expression des protéines impliquées dans la stéroïdogénèse (StAR, P560cc, CYP17A1 et 17-b-HSD) est significativement inhibée, à la plus forte dose. De même, l'expression des protéines du cycle cellulaire Cdc2, Chk1 et CDK6 est inhibée, de manière dose-dépendante. Concernant les protéines impliquées dans l'apoptose, l'expression de la protéine anti-apoptotique Bcl-2 est inhibée à toutes les doses tandis que celle de la protéine pro-apoptotique Bax est augmentée à la plus forte dose, suggérant une induction de l'apoptose.

Commentaire

Cette étude montre que le mélange de phtalates utilisé peut exercer un effet toxique sur le testicule à des doses inférieures à la NOAEL* et/ou LOAEL* de chacun des phtalates composant le mélange. Pour mémoire, les NOAEL du DMP, BBP, DEHP, DNOP et DEP sont respectivement de 750, 50, 5, 37 et 46 mg/kg/ jour et la LOAEL du DBP est de 2 mg/kg chez le rat par voie orale (1, 3, 4). Dans le mélange testé, chaque phtalate est présent à 0,267 ou 2,67 mg/kg/jour pour les traitements à 1,6 ou 160 mg/kg/jour respectivement. Ces résultats sont donc en faveur d'un effet additif des phtalates. Une étude précédente avait également observé des résultats similaires, où l'inhibition de la production de testostérone chez le fœtus de rat exposé à un autre mélange de phtalates équivalait à l'additivité des doses des composants de ce mélange (5). Plusieurs hypothèses mécanistiques sont proposées. D'une part, l'inhibition de l'expression des enzymes impliquées dans la stéroïdogénèse pourrait expliquer la baisse de

testostérone observée. D'autre part, les anomalies histologiques pourraient être liées à l'inhibition des protéines régulant le cycle cellulaire, provoquant une diminution de la progression du cycle cellulaire et de la prolifération des spermatogonies. L'altération de l'expression des protéines Bax et Bcl-2 suggère une apoptose de cellules testiculaires. Il aurait été intéressant de confirmer ces différentes hypothèses par une analyse immunohistochimique de l'apoptose et de la prolifération cellulaire. Si pour l'effet anti-androgénique, le manque de sensibilité de l'espèce humaine rend difficile l'extrapolation de ces résultats, l'induction de l'apoptose des gonocytes* par les phtalates a déjà été observée *in vitro* chez l'humain (1). Ces résultats méritent une attention particulière et montrent l'importance de pouvoir prendre en compte les effets cumulés dans les démarches d'évaluation des risques sanitaires des phtalates.

L'exposition prénatale à un mélange de phtalates à des doses environnementales perturbe la reproduction chez les souris femelles de la génération F1.

Zhou C. et al. (2017). Prenatal exposure to an environmentally relevant phthalate mixture disrupts reproduction in F1 female mice. *Toxicol Appl Pharmacol*, vol.318: p.49-57

Résumé

Cette étude évalue, chez la souris, l'effet d'une exposition prénatale à un mélange de phtalates (21 % DEHP, 35 % DEP, 15 % DBP, 8 % diisobutylphtalate ou DiBP, 5 % BBP*, 15 % diisononyl phtalate ou DiNP sur la reproduction de la descendance femelle exposée *in utero*. Des femelles gestantes sont exposées, par gavage, au mélange de 0 - 20µg - 200µg - 200 mg ou 500 mg/kg/j (n = 12 par groupe), du 10^{ème} jour de gestation à la naissance de la génération F1. Une femelle par portée de la génération F1 est sélectionnée à différents âges pour effectuer un examen macroscopique (poids corporel, ovaire, utérus), et déterminer l'apparition de la puberté (ouverture vaginale) et analyser le cycle oestral. Une femelle par portée est accouplée avec des mâles à trois, six et neuf mois pour évaluer les capacités de reproduction. Le maintien de la gestation est surveillé par la prise de poids corporel. Les résultats ne montrent aucun effet de l'exposition au mélange sur la reproduction pour la génération parentale. Sur les femelles de la génération F1, le traitement diminue la distance anogénitale à la dose de 500 mg/kg/j, et augmente le poids de l'utérus à la dose de 20 µg/kg/j à JPN*8. Aucun effet sur le poids corporel, le poids du foie, des ovaires et de l'utérus, ou sur la distance anogénitale n'est observé à JPN21 et à 13 mois. En revanche, à JPN60, la distance anogénitale est diminuée pour 20 et 200 µg/kg/j et le poids de l'utérus est augmenté pour la dose de 500 mg/kg/j. A 13 mois, des kystes ovariens sont observés dans tous les groupes traités alors qu'aucune femelle n'en présente dans le groupe témoin. A toutes les doses, le traitement perturbe le cycle oestral ; on observe une augmentation de la phase oestrus et de la phase metestrus /dioestrus à la puberté et à trois mois, puis une diminution

de la phase proestrus à six mois. Des effets sur la capacité de reproduction sont également observés, notamment des difficultés d'accouplement, des avortements et des dystocies* ; une diminution du taux de grossesse* et de l'indice de fertilité* est observée aux deux plus fortes doses après trois mois d'exposition, à toutes les doses à six mois d'exposition, et une diminution de l'indice de gestation* à toutes les doses à neuf mois.

Commentaire

Il s'agit de la première étude *in vivo* montrant des effets d'un mélange de phtalates à des doses faibles (20-200 µg/kg/jour) sur la reproduction femelle. Une précédente étude chez le rat avait montré que l'exposition *in utero* à un autre mélange de phtalates augmentait le risque de malformations vaginales et utérines (6) à des doses élevées (500 mg/kg/j). Une revue de la littérature sur les effets des phtalates sur la reproduction féminine avait conclu que des concentrations élevées étaient nécessaires pour que les phtalates puissent induire de tels effets (7). Uniquement descriptive, l'étude de Zhou et al. ne permet pas d'identifier les mécanismes impliqués. Il serait intéressant de voir si l'exposition *in utero* à ce mélange a un effet sur l'axe hypothalamo-hypophysaire gonadotrope*, et entraîne une variation du taux des hormones sexuelles et de l'expression des récepteurs aux hormones gonadotropes. *In vitro*, une étude a déjà montré que ce mélange de phtalates diminue la croissance des follicules antraux* de souris, provoque une fragmentation des ovocytes et diminue la production d'hormones stéroïdiennes (8). L'altération de la stéroïdogénèse ayant récemment été observée après une exposition au DBP* sur une culture primaire de cellules de granulosa* issues de patientes traitées en vue d'une fécondation *in vitro* (9), l'extrapolation à l'espèce humaine semble possible. Concernant les effets sur la capacité de reproduction des femelles exposées *in utero*, les auteurs ont noté des avortements et dystocies plus fréquents à six et neuf mois qu'à trois mois de traitement, et à toutes les doses. Cependant, les avortements ont été définis uniquement sur la base d'une perte de poids corporel de plus de quatre grammes pendant la gestation, ce qui constitue une limite majeure de l'étude, d'autant plus qu'aucune information sur la consommation alimentaire n'est fournie. Un examen histologique de l'utérus aurait permis de dénombrer les points d'implantation et les corps jaunes, afin de déterminer les pertes pré- et post-implantatoires.

CONCLUSION GÉNÉRALE

Jusqu'à présent, les démarches d'évaluation des risques ne prenaient en compte que des substances étudiées individuellement. Les effets liés à l'exposition simultanée à plusieurs phtalates, à l'instar de l'exposition humaine, font partie des nouvelles préoccupations des autorités sanitaires. Dans ce contexte, plusieurs pays participent au développement de nouvelles approches pour évaluer les risques cumulés d'une exposition combinée à plusieurs phtalates sur la santé humaine et l'environnement. Les deux études présentées dans cette note contribuent à mieux apprécier les effets des mélanges de phtalates sur la fonction reproductrice. Il en ressort que de faibles doses d'un mélange de phtalates, de l'ordre de celles considérées sans effet pour l'homme, peuvent avoir un effet délétère sur le fonctionnement testiculaire et ovarien. Ces études constituent des preuves de concept de l'effet cocktail des phtalates sur la fertilité masculine et féminine et permettront d'alimenter les modèles d'évaluation des risques cumulés.

GENERAL CONCLUSION

Until now, risk assessment approaches have considered substances that were studied individually. The effects of simultaneous exposure to several phthalates, as in the case with human exposure, are among health authorities' new concerns. In this context, several countries participate in the development of new approaches to assess the cumulative risks of combined phthalate exposure to human health and environment. The two studies presented in this note contribute to a better understanding of the effects of phthalate mixtures on reproductive function. It appears that low doses of phthalates mixtures, close to the doses considered to have no effect on humans, may have a deleterious effect on testicular and ovarian function. These studies provide proof-of-concept that phthalates have a cocktail effect on male and female fertility and will contribute to cumulative risk assessment models.

Lexique

Apoptose : mort cellulaire programmée.

Axe hypothalamo-hypophyséogonadotrope : système neuroendocrinien qui intervient dans le contrôle de la fonction de reproduction.

Biosurveillance : méthode d'évaluation de l'exposition permettant de détecter et mesurer, dans l'organisme, les substances chimiques de l'environnement ou leurs métabolites. Les dosages peuvent être faits dans le sang, l'urine, les cheveux ou le lait maternel.

Dystocie : complication au cours de l'accouchement.

Elisa (enzyme-linked immunosorbent assay) : Dosage immuno-enzymatique sur support solide.

Follicules antraux : stade de maturation des follicules ovariens qui se caractérise par l'apparition de la cavité folliculaire ou antrum dans la granulosa.

Gonocytes : cellules de la lignée germinale.

Granulosa : couche de cellules folliculaires granuleuses entourant l'ovocyte.

Indice de fertilité : (nombre de femmes gestantes / nombre de femmes avec bouchon vaginal) x 100.

Indice de gestation : (nombre de femmes qui mettent bas / nombre de femmes gestantes) x 100.

LH : Hormone lutéinisante : Gonadotrophine, synthétisée par l'hypophyse, qui stimule la production de testostérone chez l'homme et l'ovulation chez la femme.

LOAEL (Lowest Observed Adverse Effect Level) : Dose la plus faible d'une substance pour laquelle un effet toxique est observé.

NOAEL (No Observable Adverse Effect Level) : Dose la plus élevée d'une substance pour laquelle aucun effet toxique n'est observé.

Perturbateur endocrinien : Molécule qui mime, inhibe ou modifie l'action d'une hormone et perturbe le fonctionnement normal d'un organisme.

JPN : jour post natal.

Spermatide : cellule germinale haploïde provenant de la transformation d'une spermatogonie en spermatocyte puis de la division par méiose de celui-ci qui, après une longue maturation appelée spermiogénèse, se transforme en spermatozoïde.

Stéroïdogénèse : Synthèse des hormones stéroïdiennes, c'est-à-dire ayant pour origine le cholestérol. Les hormones stéroïdiennes sont regroupées en cinq catégories selon leurs récepteurs : les glucocorticoïdes, les minéralocorticoïdes, les androgènes, les œstrogènes et les progestagènes.

Taux de grossesse : (nombre de femmes gestantes / nombre de paires d'accouplement) x 100.

Western-blot : méthode permettant, par électrophorèse et transfert sur membrane, de détecter et d'identifier des protéines spécifiques d'un échantillon biologique.

Publications de référence

1 Rapport de l'Anses sur les connaissances relatives aux données de toxicité sur les composés de la famille des phtalates (Mars 2015). Saisine 2009-SA-0331. www.anses.fr/fr/system/files/SUBCHIM2009sa0331Ra-106.pdf

2 Dereumeaux C. et al. (2016). Imprégnation des femmes enceintes par les polluants de l'environnement en France en 2011. Volet périnatal du programme national de biosurveillance mis en oeuvre au sein de la cohorte Elfe. Tome 1 : polluants organiques: Santé publique France. <http://invs.santepubliquefrance.fr/Publications-et-outils/Rapports-et-syntheses/Environnement-et-sante/2016/Impregnation-des-femmes-enceintes-par-les-polluants-de-l-environnement-en-France-en-2011>

3 U.S. Consumer Product Safety Commission. Consumer Product Safety Commission by the chronic hazard advisory panel on phthalates and phthalate alternatives. (2014)

<https://www.cpsc.gov/PageFiles/169876/CHAP-REPORT-FINAL.pdf>

4 Rapport de l'ECHA Substance evaluation report for diethylphtalate, (2015)

<https://echa.europa.eu/documents/10162/5eb40dbe-31f3-4dc7-a3a5-b8b18b629c67>

5 Howdeshell KL. et al. (2008) . A mixture of five phthalate esters inhibits fetal testicular testosterone production in the sprague-dawley rat in a cumulative, dose-additive manner. *Toxicol Sci*,vol.105 (1):153-65.

6 Hanas BR. et al.(2013). In utero phthalates effects in the female rat: a model for MRKH syndrome. *Toxicol Lett.* vol. 223 (3):315-21.

7 Kay VR. et al. (2013). Reproductive and developmental effects of phthalate diesters in females. *Crit Rev Toxicol* vol.43(3): 200–219.

8 Zhou C. et al. (2017). Effects of an environmentally relevant phthalate mixture on cultured mouse antral follicles. *Toxicol Sci*, vol.156(1) : p.217-229

9 Adir M. et al. (2017). Dibutyl phthalate impairs steroidogenesis and a subset of LH-dependent genes in cultured human mural granulosa cell in vitro. *Reprod Toxicol*, vol.69: p.13-18

Revue de la littérature

Howdeshell KL. et al. (2017). Cumulative effects of antiandrogenic chemical mixtures and their relevance to human health risk assessment. *Int J Hyg Environ Health*, vol. 220: p.179-188

Mariana M. et al. (2016).The effects of phthalates in the cardiovascular and reproductive systems: A review. *Environ int*, vol.94:p.758-76.

Zhang T. et al. (2016). Di(2-ethylhexyl)phthalate: Adverse effects on folliculogenesis that cannot be neglected. *Environ Mol Mutagen*, vol.57(8): p.579-588.

Yaghjian L. et al. (2016). Maternal exposure to di-2-ethylhexylphthalate and adverse delivery outcomes: A systematic review. *Reprod Toxicol*, vol.65: p.76-86

Liens d'intérêts

Les auteurs déclarent n'avoir aucun lien d'intérêt.

Bisphénols A et F : leur exposition prénatale favorise les troubles anxieux et perturbent l'intégrité synaptique chez la souris

Agnès PETIT-PAITEL | paitel@ipmc.cnrs.fr

CNRS - Institut de pharmacologie moléculaire et cellulaire - UMR7275 - Valbonne

Mots clés : Anxiété, bisphénol A, bisphénol F, cerveau, dépression, synapses

Le bisphénol A (BPA) est un composé organique synthétique retrouvé dans de nombreux emballages et produits en plastique (1). Perturbateur endocrinien^{*} reconnu, son utilisation pour la fabrication des récipients alimentaires est interdite en France depuis janvier 2015. Néanmoins, les anciens contenants alimentaires en plastique sont toujours une source de contamination pour les particuliers à travers le monde. Pour preuve, plus de 90% des américains adultes présentent des taux détectables de BPA dans leurs urines (2). Plus inquiétant encore, le BPA traverse la barrière placentaire (3), affecte le développement du fœtus et produit des effets à long terme sur la structure et le fonctionnement cérébral (4,5). Des travaux chez la souris mettent en évidence que l'exposition prénatale au BPA augmenterait la susceptibilité d'apparition de troubles associés à l'anxiété et à la dépression (6). Certains industriels ont fait le choix de substituer le BPA par un analogue structural, le bisphénol F (BPF) (7), dont la toxicité sur le cerveau est inconnue. L'article de Kumar et al. suggère que l'exposition prénatale au BPA affecterait l'intégrité synaptique^{*} dans différentes zones du cerveau. Ceci pourrait être impliqué dans l'apparition des troubles anxieux chez les souris adultes. L'article d'Ohtani et al. démontre que l'exposition prénatale au BPF, utilisé comme substitut du BPA, n'est pas non plus sans danger, puisqu'il favorise l'apparition de troubles associés à l'anxiété et à la dépression, comme cela a été observé pour le BPA.

Les comportements anxieux dus à l'exposition périnatale au bisphénol A sont corrélés à la diminution de densité de protéines synaptiques associées à l'excitation au profit de celles associées à l'inhibition dans le cerveau des souris mâles.

Kumar D. et al. (2017). Anxiety like behavior due to perinatal exposure to Bisphenol-A is associated with decrease in excitatory to inhibitory synaptic density of male mouse brain. *Toxicology*, vol.378: p.107-113.

Résumé

L'exposition prénatale à de faibles doses de BPA a des effets néfastes sur le développement cérébral et provoque des effets à long terme sur sa structure et sa fonction (4,5). Cela se traduit notamment par le développement de comportements anxio-dépressifs chez l'Homme (6) et le rongeur (7). Ici, les auteurs étudient les effets d'une exposition périnatale (de sept jours post-conception à 21 jours post-natal) à de faibles doses de BPA (50µg/kg de poids corporel/jour) sur le comportement de souris et sur le rapport entre expression de protéines associées aux synapses^{*} excitatrices et inhibitrices dans deux zones cérébrales impliquées dans l'anxiété : le cortex préfrontal^{*} et le gyrus denté hippocampique^{*}. Dans le test comportemental du champ ouvert^{*}, les souris mâles adultes (huit semaines) exposées au BPA passent moins de temps dans le centre de l'arène et font moins d'entrées dans cette zone que les souris contrôlées. Dans le test du labyrinthe en

croix surélevé^{*}, les souris exposées au BPA passent moins de temps et entrent moins dans le bras ouvert que les souris contrôlées. Ces tests comportementaux confirment que l'exposition périnatale au BPA augmente la réponse face à des stimuli anxiogènes. Les niveaux d'expression de différentes protéines synaptiques ont été analysés par western-blot^{*} et immunohistochimie^{*} dans le cortex cérébral et l'hippocampe^{*} de souris prépubères (trois semaines) et adultes (huit semaines). L'expression de la protéine PSD95, marqueur post-synaptique des synapses excitatrices, est diminuée par le traitement au BPA, dans les deux régions cérébrales des souris pré-pubères et des souris adultes. La synaptophysine, protéine pré-synaptique, dont l'expression corrèle avec la densité synaptique (8), est également diminuée après exposition au BPA à court et plus long terme dans les deux zones cérébrales. En revanche, l'expression de la géphyrine, protéine d'ancrage des récepteurs GABAergiques dans les synapses inhibitrices, est augmentée par le traitement au BPA, dans les deux zones cérébrales, chez les souris pré-pubères et adultes. Le traitement au BPA diminue le ratio de l'expression de la protéine « excitatrice » (PSD95) sur celle de la protéine « inhibitrice » (géphyrine). Cette étude confirme donc que l'exposition périnatale au BPA favorise dans la descendance mâle, des comportements liés à l'anxiété. De plus, le BPA réduirait la densité synaptique et pourrait modifier le rapport entre synapses excitatrices/inhibitrices, dont la dérégulation perturbe la plasticité synaptique^{*}, les fonctions cognitives et la régulation de l'humeur.

Commentaire

Les résultats de cette étude suggèrent que l'exposition prénatale au BPA a des répercussions sur l'expression de protéines impliquées dans le fonctionnement et la plasticité synaptique, dans des zones cérébrales impliquées dans l'anxiété. Ces effets semblent être durables, puisqu'ils sont observés également dans le cerveau de souris adultes, plusieurs semaines après l'arrêt du traitement. Le BPA pourrait donc perturber à long terme la transmission synaptique, et donc la communication neuronale, ce qui pourrait être à l'origine de ses propriétés anxiogènes (9,10). Il est regrettable que les auteurs ne démontrent malheureusement pas de relation de cause à effet entre ces deux phénomènes. De plus, l'originalité de l'étude réside dans les résultats sur les aspects synaptiques qui auraient pu être étayés et confortés par des données complémentaires, structurales et fonctionnelles. Ces résultats soulèvent toutefois un point important en démontrant les effets perturbateurs durables d'une exposition prénatale au BPA sur l'organisation moléculaire synaptique du cerveau des souris.

Effets néfastes d'une exposition maternelle au bisphénol F sur les comportements associés à l'anxiété et à la dépression de la descendance

Ohtani N. et al. (2017). Adverse effects of maternal exposure to bisphenol F on the anxiety- and depression-like behavior of offspring. *J Vet Med Sci.* vol.79(2): p.432-439

Résumé

De nombreuses études ont démontré qu'en agissant sur les récepteurs aux stéroïdes, le BPA affecterait le développement du cerveau et du système reproducteur chez le fœtus, les bébés et les jeunes enfants. Chez le rongeur, l'exposition prénatale au BPA aurait des répercussions comportementales en favorisant l'apparition de comportements anxieux (6). De ce fait, le BPA n'entre plus dans la fabrication des biberons en France. De nombreux analogues structuraux au BPA sont actuellement utilisés : bisphénol B, F, S ou AF. En particulier, le BPF est très largement utilisé bien que certaines études rapportent son activité estrogénique* (11). De plus, son passage de la barrière placentaire a été démontré chez le rongeur et indique qu'il pourrait atteindre le fœtus. Les effets de l'exposition prénatale au BPF sur le comportement sont encore méconnus. Dans cette étude, les auteurs ont quotidiennement administré oralement à des souris femelles des doses modérées de BPA ou BPF (10mg/kg de poids corporel/jour) pendant la seconde moitié de leur gestation (de 11,5 à 18,5 jours post-conception). Ils ont ensuite évalué les comportements associés à l'anxiété et à la dépression de la descendance adulte (10 semaines). Dans le test du champ-ouvert, les souris femelles exposées *in utero* au BPA et au BPF passent significativement moins de temps dans le centre de l'arène que les souris contrôlées. Dans le test du labyrinthe en croix surélevé, les souris femelles exposées au BPF entrent moins souvent et passent moins de temps dans le bras ouvert (anxiogène). Les souris

mâles exposées au BPF passent, eux-aussi, moins de temps dans le bras ouvert. Globalement, ces résultats indiquent que l'exposition prénatale au BPF induit des comportements anxieux dans la descendance adulte, en particulier chez les femelles. Dans le test de la nage forcée, le BPF augmente le taux d'immobilité des femelles, alors que le BPA ne le modifie pas, indiquant que le BPF augmente la résignation des animaux, associée aux comportements dépressifs. De manière intéressante, cette étude suggère que l'exposition prénatale au BPF aurait des effets comportementaux dépendants du sexe, les souris femelles développant plus de comportements associés à l'anxiété et à la résignation. Les mécanismes d'action du BPF, qui pourraient concerner l'équilibre hormonal ou les systèmes de neurotransmission, restent encore à déterminer.

Commentaire

Bien qu'uniquement descriptive, cette étude possède l'intérêt de démontrer que l'exposition prénatale à des doses modérées de BPF, utilisé comme substitut du BPA en tant que "révélateur" dans les papiers thermiques (tickets de caisse), produit des effets néfastes sur le comportement de jeunes souris en favorisant l'apparition de comportements anxio-dépressifs. De manière intéressante, les effets du BPF se révèlent supérieurs, à dose équivalente, à ceux du BPA, perturbateur endocrinien reconnu. Il semblerait également que ces effets soient dépendants du sexe, les femelles étant plus touchées que les mâles. Bien que dans cette étude aucun mécanisme ne soit mis en évidence pour expliquer les conséquences de l'exposition au BPF, ce n'est pas la première alerte concernant l'absence d'innocuité du BPF, puisque plusieurs études ont déjà rapporté, y compris sur des cellules testiculaires fœtales humaines (12), le potentiel estrogénique du BPF.

CONCLUSION GÉNÉRALE

Du fait des nombreuses études démontrant la dangerosité du BPA, son utilisation dans tous les conditionnements en contact direct avec les denrées alimentaires (canettes, boîtes de conserve et couvercles métalliques) est interdite en Europe depuis 2015. Cependant, l'Homme reste exposé à de faibles doses de BPA par le biais de nombreux objets de la vie quotidienne toujours en circulation. La première étude présentée ici s'intéresse aux conséquences cérébrales d'une exposition périnatale à de faibles doses de BPA chez les souris jeunes et adultes. Les résultats confirment les données préexistantes sur les effets anxiogènes du BPA chez les souris. Ils suggèrent aussi que le BPA aurait des effets perturbateurs à long terme sur les niveaux d'expression de plusieurs protéines synaptiques dans différentes zones cérébrales. Il pourrait s'agir d'un des mécanismes par lequel le BPA influencerait sur les fonctions cognitives. La seconde étude compare les effets d'une exposition prénatale à des doses modérées de BPA ou de son analogue structural, le BPF, sur les comportements liés à l'anxiété de souris adultes. Dans ce contexte et à dose équivalente, les effets délétères du BPF se révèlent plus importants que ceux du BPA. Ces résultats s'ajoutent donc aux quelques études récentes menées sur les substituts du BPA dont la dangerosité n'a encore que très peu été mise en évidence chez l'Homme et autres mammifères. Il n'y a actuellement aucune réglementation les concernant.

GENERAL CONCLUSION

Due to the numerous studies demonstrating the dangerousness of BPA, its use in Europe has been banned since 2015. However, human beings remain exposed to low doses of BPA through many objects of daily life which are still in circulation. The first study presented here focuses on the cerebral consequences of perinatal exposure to low doses of BPA in young and adult mice. The results confirm the preexisting data on the anxiogenic effects of BPA on mice. In addition, they suggest that BPA would have long-term disruptive effects on the levels of expression of several synaptic proteins in different brain areas. This could be one of the mechanisms by which BPA may affect cognitive functions. The second study compared the effects of perinatal exposure to moderate doses of BPA or its analog BPF on adult mouse anxiety-related behaviors. In this context and at an equivalent dose, the deleterious effects of BPF are greater than those of BPA itself. These results are in line with the few recent studies on BPA substitutes, the risk of which has not yet been evaluated for humans and other mammals. There are currently no regulations concerning them.

Lexique

Cortex préfrontal : Zone du cerveau impliquée dans les réponses émotionnelles et ayant de nombreuses connexions avec d'autres régions du cerveau responsables du contrôle de la dopamine, de la noradrénaline et de la sérotonine, trois neurotransmetteurs importants pour la régulation de l'humeur. La sévérité de la dépression est corrélée au degré de la baisse d'activité du cortex préfrontal.

Hippocampe : Zone du cerveau localisée dans le lobe temporal, impliquée dans la mémoire et le repérage dans l'espace mais aussi dans la régulation de l'humeur et en particulier l'anxiété. Il comprend 3 zones : le subiculum, la corne d'Ammon (aires CA1, CA2 et CA3) et le gyrus denté.

Immunohistochimie : Méthode de localisation et quantification de protéines dans une coupe de tissu grâce à des anticorps spécifiques.

Perturbateur endocrinien : Molécule qui mime, inhibe ou modifie l'action d'une hormone et perturbe le fonctionnement normal d'un organisme.

Plasticité synaptique : Correspond aux modifications morphologiques, chimiques et fonctionnelles qui interviennent au niveau de la synapse. La plasticité synaptique serait à la base des processus d'apprentissage et de mémorisation.

Synapse : Zone fonctionnelle de transformation de l'influx nerveux entre un neurone et une cellule réceptrice. Les synapses chimiques sont de deux sortes : excitatrices lorsqu'elles amplifient le signal électrique, inhibitrices lorsqu'elles le réduisent. Une synapse chimique est composée de deux éléments fondamentaux : l'axone d'un neurone présynaptique, où se trouvent des vésicules contenant des neurotransmetteurs excitateurs (comme le glutamate) ou inhibiteurs (le GABA), et la région réceptrice d'un neurone postsynaptique. Cette région peut être une dendrite, un axone, ou bien un corps cellulaire, sur laquelle sont disposés des récepteurs spécifiques réagissant au neurotransmetteur.

Test du champ ouvert (open-field) : Test comportemental permettant d'estimer le comportement exploratoire et l'activité générale chez les rongeurs. L'animal est placé dans une enceinte, généralement carrée, rectangulaire ou de forme circulaire avec des murs qui empêchent toute évasion. La distance parcourue, le temps passé en mouvement, les redressements et le changement de l'activité au fil du temps sont observées. Certains résultats, en particulier la défécation, le temps passé au centre de l'enceinte et l'activité exploratoire dans les cinq premières minutes du test servent également à estimer certains aspects de l'émotivité, y compris l'anxiété. Un objet peut aussi être placé au centre de l'enceinte afin de fournir à l'animal la possibilité d'explorer un nouvel objet dans un contexte environnemental familier.

Test du labyrinthe en croix surélevé (elevated plus maze) : Test comportemental permettant de mesurer la peur et l'anxiété. Le test est fondé sur la préférence de l'animal pour les endroits sombres et clos, comparativement aux endroits éclairés et découverts. Le dispositif comprend deux bras étroits et longs se croisant perpendiculairement, l'un est découvert, l'autre recouvert. La souris est placée au point de croisement des bras. Le temps passé dans chaque

bras est comptabilisé ainsi que le nombre de tentatives d'entrées dans le bras découvert. Ce labyrinthe s'avère particulièrement utile pour vérifier les effets des médicaments anxiolytiques et anxiogènes.

Western-blot : Technique de biologie moléculaire permettant de détecter et quantifier sur membrane de protéines grâce à des anticorps spécifiques.

Publications de référence

1 Krishnan AV, Stathis P, Permuth SF, et al. Bisphenol-A: an estrogenic substance is released from polycarbonate flasks during autoclaving. *Endocrinology* 1993;132:2279-86.

2 Calafat AM, Ye X, Wong LY, et al. Exposure of the U.S. population to bisphenol A and 4-tertiary-octylphenol: 2003-2004. *Environ Health Perspect* 2008;116:39-44.

3 Schonfelder G, Wittfoht W, Hopp H, et al. Parent bisphenol A accumulation in the human maternal-fetal-placental unit. *Environ Health Perspect* 2002;110:A703-7.

4 Cox KH, Gatewood JD, Howeth C, et al. Gestational exposure to bisphenol A and cross-fostering affect behaviors in juvenile mice. *Horm Behav* 2010;58:754-61.

5 Kubo K, Arai O, Omura M, et al. Low dose effects of bisphenol A on sexual differentiation of the brain and behavior in rats. *Neurosci Res* 2003;45:345-56.

6 Harley KG, Gunier RB, Kogut K et al. Prenatal and early childhood bisphenol A concentrations and behavior in school-aged children. *Environ Res* 2013;126:43-50.

7 Cox KH, Gatewood JD, Howeth C, et al. Gestational exposure to bisphenol A and cross-fostering affect behaviors in juvenile mice. *Horm Behav* 2010;58:754-61.

8 Tian YH, Baek JH, Lee SY, et al. Prenatal and postnatal exposure to bisphenol a induces anxiolytic behaviors and cognitive deficits in mice. *Synapse* 2010;64:432-9.

9 Liao C, Liu F, Guo Y, et al. Occurrence of eight bisphenol analogues in indoor dust from the United States and several Asian countries: implications for human exposure. *Environ Sci Technol* 2012;46:9138-45.

10 Tarsa L, Goda Y. Synaptophysin regulates activity-dependent synapse formation in cultured hippocampal neurons. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2002;99:1012-6.

11 Bishop S, Duncan J, Brett M, et al. Prefrontal cortical function and anxiety: controlling attention to threat-related stimuli. *Nat Neurosci* 2004;7:184-8.

12 Eladak S, Grisin T, Moison D, et al. A new chapter in the bisphenol A story: bisphenol S and bisphenol F are not safe alternatives to this compound. *Fertil Steril* 2015;103:11-21.

Revue de la littérature

Bannerman DM, Sprengel R, Sanderson DJ, et al. Hippocampal synaptic plasticity, spatial memory and anxiety. *Nat Rev Neurosci* 2014;15:181-92.

Rochester JR, Bolden AL. Bisphenol S and F: A Systematic Review and Comparison of the Hormonal Activity of Bisphenol A Substitutes. *Environ Health Perspect* 2015.

Liens d'intérêts :

Les auteurs déclarent n'avoir aucun lien d'intérêt.

anses

agence nationale de sécurité sanitaire
alimentation, environnement, travail



Connaître, évaluer, protéger

Bulletin de veille BVS scientifique

Édition scientifique • Bulletin de veille n° 33 • Avril 2018
Notes d'actualité scientifique

Outils et méthodes

Pollution de l'air et maladies neurodégénératives : regard sur l'exposition

Gilles MAIGNANT | maignant@unice.fr

CNRS - UMR 912 SESSTIM - Marseille

Mots clés : Démence, exposition, maladies neurodégénératives, pollution atmosphérique

La pollution de l'air a de très nombreux effets sur la santé, notamment un rôle majeur dans la survenue de maladies respiratoires ou cardiovasculaires (Clougherty, Klubzansky, 2009). Plusieurs études s'y intéressent et ont montré que l'exposition à des concentrations même modérées, mais quotidiennes, peut augmenter le risque de survenue de ces maladies. En revanche, très peu d'études ont publié des résultats sur le lien éventuel entre pollution atmosphérique, démence et maladies neurodégénératives. En France, comme à l'international, les maladies neurodégénératives constituent un défi pour le système de santé et la politique de recherche. Aujourd'hui dans notre pays, plus de 850 000 personnes sont touchées par la maladie d'Alzheimer ou une maladie apparentée, elles sont plus de 200 000 personnes touchées par la maladie de Parkinson et plus de 100 000 personnes touchées par la sclérose en plaques. L'intention de cette note est de faire le point sur les dernières avancées scientifiques en investiguant les liens entre pollution et les maladies neurodégénératives d'une part, pollution et les fonctions cognitives et l'interaction avec la longueur des télomères, d'autre part.

Habiter à proximité des routes principales et incidence de la démence, de la maladie de Parkinson, et de la sclérose en plaque : une étude de cohortes populationnelles

Chen H. et al. (2017). Living near major roads and the incidence of dementia, Parkinson's disease, and multiple sclerosis: a population-based cohort study. *The Lancet*, vol.389: p.718-726.

Résumé

La démence, la maladie de Parkinson et la sclérose en plaques sont les maladies neurodégénératives les plus communes. Elles ont des effets dévastateurs sur les individus, leurs familles et plus globalement la société. Comprendre leurs causes est donc un enjeu de santé publique majeur. Les expositions à la pollution de l'air et au bruit du trafic automobile pourraient contribuer à la survenue de ces maladies neurodégénératives. Le fait d'habiter proche d'une artère à fort trafic augmente l'exposition aux oxydes d'azote, aux particules fines et ultra fines, aux métaux lourds, aux HAP*, et au bruit. Une étude de cohorte de plusieurs millions d'habitants de l'Ontario s'est intéressée au lien entre le fait d'habiter à proximité d'un réseau routier important et le risque de maladies neurodégénératives. L'article s'intéresse à cette cohorte, répartie en deux groupes d'âge : les individus âgés de 20-50 ans (avec une sclérose en plaque) et les individus âgés de 55-85 ans (avec démence ou maladie de Parkinson), de répartition équivalente hommes/femmes (49.8%)/(50.2%). Des facteurs préexistants de co-morbidité ont été renseignés (cardiopathie coronarienne, AVC, insuffisance cardiaque, diabète, hypertension, arythmie, traumatisme crânien). La distance aux routes a été calculée avec un SIG* en se basant sur le code postal de l'adresse de résidence en 1996, soit cinq ans avant le début de la cohorte (estimation d'une

exposition chronique). Cinq catégories de distance à l'axe principal sont créées (de moins de 50 m à plus de 300 m). Les données de pollution de l'air dans cette étude, sont des données long-terme permettant d'estimer correctement les concentrations ; ces données proviennent de différents réseaux nationaux de mesure, d'estimations satellitaires (période 2005-2011) et de régressions. La méthode statistique utilisée pour estimer la relation entre la proximité résidentielle aux routes principales et l'incidence entre 2001 et 2012 de la démence, de la maladie de Parkinson et de la sclérose en plaques est un modèle de risques proportionnels (modèles de Cox). Pour chaque classe de distance à la route (cas identifiés), les risques relatifs instantanés (*hazard ratio*) ajustés sont confrontés à ceux de la distance la plus élevée (distance supérieure à 300 m, pris comme référence).

Commentaire

L'étude de Chen et al. met en exergue une nouvelle conséquence de la pollution de l'air sur la santé, en particulier sur les citadins, et se distingue des autres études par la taille de la cohorte, le soin apporté à documenter les expositions et les facteurs de confusion possibles. Comme dans n'importe quelle étude environnementale faisant intervenir des cohortes de patients, des biais sont présents mais bien argumentés par les auteurs. L'un des biais réside dans l'utilisation du code postal du lieu de résidence et non du lieu de travail (qui correspond à la plus grande plage horaire de la journée), ce qui ne reflète pas exactement l'exposition personnelle. De plus, les données socioéconomiques individuelles et des facteurs de comportements tels que l'éducation, le fait de fumer ou pas, l'activité physique n'étaient pas renseignés pour le panel, bien qu'ayant des effets avérés sur la santé

neurologique. Il est toujours difficile de retracer les itinéraires de vie des cohortes mobilisées. De même, il n'a pas été possible d'identifier les cas non-diagnostiqués de démence, maladie de Parkinson, et sclérose en plaques, ou de connaître les prescriptions médicamenteuses qui peuvent influencer notablement le risque de démence. Aussi, comprendre le rôle de la pollution de l'air dans l'apparition de maladies neurodégénératives mérite de nouveaux approfondissements et d'autres études. Les résultats intéressants sont ceux de l'association entre $PM_{2,5}$ et le risque de démence et entre ce risque et le NO_2 . Les auteurs soulignent à juste titre que les risques associés sont modestes, que le risque attribuable à ces polluants l'est aussi ; il s'ensuit que d'autres facteurs contribuent plus au risque que les précédents, le bruit est évoqué, mais c'est assez peu détaillé.

Longueur des télomères, exposition à long terme au black carbon, et fonctions cognitives dans une cohorte d'hommes âgés : étude normative sur le vieillissement d'anciens vétérans

Colicino E. et al (2017). Telomere length, long-term black carbon exposure, and cognitive function in a cohort of older men: The VA normative aging study. *Rev Environ Health Perspectives*. vol.125(1): p 76-81.

Résumé

Ce travail étudie l'effet modificateur de la longueur des télomères sur la relation entre l'exposition annuelle au black carbon* (BC), marqueur de la pollution automobile, et les fonctions cognitives chez le sujet âgé. L'étude vérifie que cette modification est indépendante de l'âge et de la protéine C-réactive (CRP), marqueur d'inflammation. Les fonctions cognitives d'un échantillon de 428 hommes âgés (anciens combattants) ont été évaluées sur la période 1999-2007. Quatre paramètres ont été mesurés : la longueur du télomère, le niveau d'exposition au black carbone, les fonctions cognitives et la CRP avec examens et tests tous les 3-5 ans depuis 1984, un questionnaire complet (historique médical, conditions de vie, facteurs démographiques). Le suivi cognitif a été réalisé par le test MMSE*, un bon indicateur pour détecter une démence (orientation, reformulation, capacité à suivre une commande en trois étapes, etc.), test dont le score varie de 0 à 29. Sur les 428 personnes constituant la cohorte, 21 ont eu trois évaluations cognitives, 152 en ont eu deux et 255 n'ont eu qu'une seule. L'exposition à la pollution s'est appuyée sur l'adresse de résidence au diagnostic en utilisant un modèle de régression spatio-temporel, combinant les données de 148 stations de mesures. La méthodologie employée est une analyse statistique (corrélation de Pearson), avec le MMSE pris comme variable dépendante. La structuration des données a montré que 15,4% des individus ont obtenu le score maximal, et que 9,6% étaient inférieur ou égal au seuil de détection de la démence (24). Les participants à cette étude étaient âgés de 56 à 94 ans. La longueur moyenne de télomère, à la première visite, est de 1.26 unités (écart type : 0.51) et est corrélée négativement à

l'âge. Les résultats vont dans le même sens que les publications sur le sujet, qui montrent que l'exposition au black carbone est associée aux faibles scores de MMSE : un doublement de concentration de black carbone, l'année antérieure aux mesures, augmente le ratio de faible MMSE d'un facteur 1.57 (IC95% = [1.20 ; 2.05]), effet plus marqué pour des sujets possédant des longs télomères, avec une association indépendante avec les niveaux de CRP les plus élevés.

Commentaire

Cette étude innove en testant des marqueurs biologiques d'effet, la longueur des télomères et les concentrations de CRP dans le sang en relation avec le risque accru d'atteinte cognitive chez les sujets âgés. Cependant, cette cohorte est constituée d'une population particulière (des hommes vétérans, caucasiens et âgés), les résultats devront être confirmés par d'autres études avant de considérer qu'ils ont transposables à d'autres populations (femmes, origines ethniques différentes, etc.). Le fait d'avoir sélectionné une population âgée (56-94 ans) avec plus de 50% d'entre elle dans la tranche d'âge (69-78) peut avoir contribué à ne pas trouver d'associations entre la longueur des télomères et les mesures cognitives. De plus, les niveaux d'exposition sont déterminés à un niveau local et non pas individuel, ce qui réduit la variabilité spatiale (concentrations en black carbone) et donc diminue le risque de montrer une relation ; l'exposition étant estimée en prenant en compte les moyennes journalières de concentrations en black carbone sur l'année d'avant, ce qui constitue un biais car l'historique de l'exposition individuelle n'est pas pris en compte.

CONCLUSION GÉNÉRALE

De nombreuses études ont identifié certains facteurs mettant en relation les effets du trafic automobile sur la santé (maladies respiratoires, cardiovasculaires ...) mais très peu ont jusqu'alors étudié l'impact de la pollution de l'air sur les fonctions cognitives ou les maladies neurodégénératives. Cette note présente des nouveaux éléments de réponse et ouvre un vaste champ d'investigation dans la compréhension de l'impact environnemental sur des maladies ayant un fort enjeu médical, sociétal et économique. Ces résultats établis pour des populations canadiennes et nord-américaines mériteraient d'être complétés par des études portant sur d'autres populations (européennes, asiatiques, africaines).

GENERAL CONCLUSION

Many studies have identified several factors that link the effects of car traffic on health (respiratory diseases, cardiovascular diseases, etc.), but no information has been available on the impact of air pollution on cognitive functions or neurodegenerative diseases. This note brings in this direction new elements of response and opens a vast field of investigation in the understanding of diseases having a high medical, societal and economic stake. These findings for Canadian and North American populations should be supplemented by studies of other populations (European, Asian, and African).

air pollution in relation to progression in physical disability among older adults. *Environmental Health Perspectives* 2016; 124 (7):1000-08.

Liens d'intérêts :

Les auteurs déclarent n'avoir aucun lien d'intérêt.

Lexique

Black Carbone (BC) : Suies, sous-produit indésirable formé par une combustion incomplète dans des conditions non contrôlées (fioul des moteurs diesels, fumées de bois et de charbon).

CRP (protéine C-réactive) : Protéine dont le taux s'élève dans le sang en cas d'inflammation.

HAP : Sous-famille des hydrocarbures aromatiques polycycliques, composés présents dans tous les milieux environnementaux et à forte toxicité.

MMSE : Mini examen d'état mental, échelle d'évaluation cognitive très sensible pour les troubles mnésiques, dont le score varie de 1 à 29, le Cut-off pour diagnostiquer des troubles dépend du niveau culturel de la personne (<3, compris entre 3 et 5 (primaire ou CEP), 6 (secondaire ou bac)), seuil fixé respectivement à 22, 23 et 26.

Modèles de Cox : Modèle de survie en statistiques, le modèle de Cox exprime la fonction de risque instantané d'un paramètre en fonction du temps et d'un ensemble de covariables.

PM_{2,5} : Particules fines de taille inférieure ou égale à 2.5 µm

SIG : Système d'information géographique, outil permettant de gérer, stocker et croiser des données à emprise spatiale.

Publications de référence

1 Ritz B, Lee PC, Hansen J, Funch Lassen C, Ketzl M, Sorensen M, Raaschou-Nielsen OI. Traffic related air pollution and Parkinson's disease in Denmark: a case-control study. *Environmental Health Perspectives* 2016; 124 (3):351-56.

2 Oudin A, Forsberg B, Nordin Adolfsson A, Lind N, Modig L, Nordin M, Nordin S, Adolfsson R, Nilsson LG. Traffic-related air pollution and dementia incidence in Northern Sweden : a longitudinal study. *Environmental Health Perspectives* 2016; 124 (3):306-12.

3 Weuve J, Kaufman JD, Szpiro AA, Curl C, Puett R, Beck T, Evans DA, Mendes de Leon CF. Exposure to traffic-related

anses

agence nationale de sécurité sanitaire
alimentation, environnement, travail



Connaître, évaluer, protéger

Bulletin de veille BVS scientifique

Édition scientifique • Bulletin de veille n° 33 • Avril 2018
Notes d'actualité scientifique

Risques sanitaires et société

Environnement socio-économique et incidence des cancers en France

Helene BAYSSON | helene.baysson@irsn.fr

IRSN - Laboratoire d'épidémiologie – Fontenay-aux-Roses

Mots clés : Cancer, indice de défavorisation sociale, incidence, fraction attribuable, registres de cancers

Si au niveau mondial, la France fait partie des pays présentant les meilleurs indicateurs globaux de santé, elle figure parmi les pays d'Europe ayant un gradient social de mortalité prématurée le plus marqué [1]. Le cancer est l'une des pathologies qui participe le plus à ce gradient. La compréhension des mécanismes à l'origine des disparités socio-économiques d'incidence des cancers constitue une priorité de santé publique de lutte contre les inégalités sociales afin de mettre en place des actions de prévention et de promotion de la santé, ciblées auprès des populations les plus vulnérables. L'étude de Bryère et al., la première du genre en France, est basée sur un nombre important de données recueillies par les registres de cancer en France.

BRYERE J. et al. (2017). Environnement socioéconomique et incidence des cancers en France BEH, 7 février.

Résumé

A partir des données des registres de la population du réseau Francim (Réseau français des registres des cancers), cette étude a pour objectif de quantifier l'influence de l'environnement socioéconomique sur l'incidence des cancers en France et d'en estimer la fraction attribuable. Ces registres couvrent 16 départements et concernent environ 12 millions d'individus (soit 20% de la population française). Les caractéristiques cliniques des tumeurs ont été collectées par les registres de façon standardisée. La topographie, la morphologie, l'âge, le sexe et la date de diagnostic sont connus pour chaque patient. Tous les cas de cancers diagnostiqués dans les registres de cancers entre le 1er janvier 2006 et le 31 décembre 2009 sont inclus dans l'étude. Pour chaque cas de cancer diagnostiqué, l'adresse du patient a été géo localisée par la plate-forme méthodologique nationale pour l'étude et la réduction des inégalités sociales en cancérologie (ERISC) grâce à un système d'information géographique (ARGIS 10.2) et affectée à un Iris*. Le niveau de défavorisation sociale de chaque Iris (9740 Iris dans cette étude) a été évalué à travers l'European Deprivation Index (EDI)* basé sur le recensement de la population Insee de 2007. Une approche bayésienne a été utilisée pour la modélisation statistique afin de prendre en compte l'autocorrélation spatiale (zones voisines pouvant ne pas être indépendantes et avoir des taux d'incidence similaire) et l'hétérogénéité spatiale non structurée des données (taille de population différente entre les Iris). La population de l'Iris a été divisée en 5 groupes sur la base des quintiles de la distribution de l'EDI sur l'ensemble de la France (Q1 étant la catégorie la plus favorisée et Q5 la plus défavorisée) pour la version catégorielle de l'EDI. Le PAF (Population Attribuable Fraction) a été évalué pour les localisations en sur-incidence dans les zones défavorisées puis le nombre de cas de cancer attribuable à la défavorisation sociale a été calculé en multipliant la valeur du PAF par le nombre de cas incidents en France pour l'année 2012. L'analyse a porté sur 189 144 personnes (100 299 hommes et 78 845 femmes) ayant eu

un diagnostic de cancer entre 2006 et 2009 et résidant dans l'un des 16 départements disposant d'un registre des cancers et ce pour chacune des 15 tumeurs solides et des 3 hémopathies malignes les plus fréquentes. Un gradient d'incidence statistiquement significatif croissant avec la défavorisation sociale a été observé pour les cancers de l'estomac, du foie, des lèvres-bouche-pharynx (LBP) et du poumon, observé dans les deux sexes ainsi que pour les cancers du larynx, de l'oesophage, du pancréas et de la vessie chez les hommes et des cancers du col de l'utérus chez les femmes. À l'inverse, pour les cancers de la prostate et des testicules chez l'homme, les cancers des ovaires et du sein chez la femme, et le mélanome dans les deux sexes, un gradient social d'incidence croissant, statistiquement significatif, est observé avec la favorisation sociale. La part des cas de cancers attribuables à la défavorisation sociale est la plus importante pour les cancers du larynx (30,1%), des LBP (26,6%), du poumon (19,9%) et de l'oesophage (16,7%) chez l'homme, et pour les cancers des LBP (22,7%), du col de l'utérus (21,1%) et de l'estomac (16,4%) chez la femme (risque relatif dans la catégorie la plus défavorisée par rapport à la catégorie la plus favorisée statistiquement supérieur à 1,5). Les auteurs concluent que près de 15 000 cas de cancers (dont 75% chez les hommes) pourraient être évités en France chaque année avec une amélioration des conditions de vie et la promotion de la santé auprès des populations les plus défavorisées. Ce gain potentiel serait plus important pour les hommes que pour les femmes et maximal vis-à-vis du cancer du poumon.

Cette étude confirme, à partir de données françaises, le sur-risque de cancers des voies respiratoires et digestives hautes pour les populations les plus défavorisées. Selon les auteurs, la détermination sociale de certains facteurs de risque comme la consommation de tabac, les expositions professionnelles ou les polluants atmosphériques expliquerait sans doute une part importante des différences observées. La surreprésentation du cancer de la prostate dans les milieux les plus favorisés, et dans une moindre mesure pour le cancer du sein, est sans doute très liée aux pratiques de dépistage plus fréquentes dans ces milieux. D'autres facteurs de risque (notamment ceux liés au mode de vie, aux expositions professionnelles et environnementales)

pourraient expliquer la fréquence plus élevée des cancers du foie, de l'estomac, du pancréas et de la vessie dans les populations les plus défavorisées ainsi que la fréquence plus élevée de cancers de l'ovaire, du testicule et surtout du mélanome dans les populations les plus favorisées.

Commentaire

Cette étude originale est basée sur un échantillon important de données collectées par les registres de cancer du réseau Francim. Elle montre que l'influence de l'environnement social sur l'incidence des cancers varie selon le type de cancer : l'incidence observée pouvant être croissante ou décroissante en fonction de la défavorisation sociale. Ces résultats confirment la nécessité de renforcer les efforts de prévention et de promotion de la santé ciblées sur les populations les plus à risque. L'évaluation de l'environnement des patients par la caractérisation socioéconomique de leur lieu de résidence (via l'indice synthétique agrégé) est une approche de plus en plus utilisée en France comme dans de nombreux pays étrangers (USA, Royaume-Uni, Canada...) pour pallier au manque de données individuelles, même si elle présente des limites, notamment en cas d'agrégation de cas dans une même zone. En outre, la géolocalisation est faite au moment du diagnostic ce qui ne permet pas de retracer une exposition passée. L'information socioéconomique agrégée doit être recueillie à un niveau géographique suffisamment fin pour assurer une bonne discrimination des zones étudiées et la minimisation du biais écologique lié au fait que le même score est attribué à toutes les personnes vivant dans la même zone. En France, les « Ilots Regroupés pour l'Information Statistique » (IRIS 2000) sont les plus petites entités géographiques pour lesquelles les résultats du recensement de la population sont disponibles. L'apport des registres de cancer est essentiel car il assure la représentativité des échantillons étudiés, la disponibilité de données longitudinales de la mise en évidence du cancer jusqu'aux dernières nouvelles du patient, et la comparabilité des données entre régions. La collecte des données est réalisée de façon standardisée, assurant ainsi leur exhaustivité et leur bonne qualité. Enfin, il est important de noter que l'incidence renvoie au nombre de nouveaux cas recensés, et que d'éventuelles disparités dans les pratiques de dépistage et de sur-diagnostic qui lui est lié, doivent être prises en compte pour interpréter les résultats obtenus (ex : cancers de la prostate et du sein).

CONCLUSION GÉNÉRALE

Cette étude confirme, à partir de données françaises issues des registres de cancer (réseau Francim), le sur-risque des cancers des voies respiratoires et digestives hautes pour les populations vivant dans un environnement social défavorisé. Ceci s'expliquerait en grande partie par la détermination sociale de certains facteurs de risque comme la consommation de tabac, les expositions professionnelles, les polluants atmosphériques. À l'inverse, les cancers de la prostate et dans une moindre mesure du sein, sont plus fréquents dans les catégories sociales les plus favorisées, qui pratiquent davantage le dépistage.

GENERAL CONCLUSION

This study confirms, using data from French cancer registries (Francim network), the over-incidence for cancers of the respiratory tract and for digestive cancers for individuals living in disadvantaged areas. This is mainly explained by the social determination of certain risk factors such as smoking, occupational exposures or air pollutants. On the other hand, prostate cancer and to a less extent breast cancer occur more frequently in the upper class, probably due to regular health check up.

Lexique

Iris : Correspond à l'entité géographique infra-communale la plus petite pour laquelle on dispose de données censitaires (entre 1800 et 5000 patients).

Edi (European Deprivation Index) : Indice agrégé permettant de mesurer la défavorisation sociale de manière comparable entre les différents pays européens

PAF : Part de l'incidence d'un cancer donnée associée à la défavorisation.

Publications de référence

1 Mackenbach JP, Stirbu I, Roskam AJ, Schaap MM, Menvielle G, Leinsalu M, et al. European Union Working Group on Socioeconomic Inequalities in Health. Socioeconomic inequalities in health in 22 European countries. *N Engl J Med.* 008;358(23):2468-81. Erratum in: *N Engl J Med.*2008;359(12):e14.

2 Bryere J, Dejardin O, Launay L, Colonna M, Grosclaude P, Launoy G, French Network of Cancer Registries (FRANCIM). Socioeconomic status and site-specific cancer incidence, a Bayesian approach in a French Cancer Registries Network study. *Eur J Cancer Prev.* 2016 Nov 22.

Liens d'intérêts:

Les auteurs déclarent n'avoir aucun lien d'intérêt.

Les troubles musculo-squelettiques : mise en place d'indicateurs pour améliorer les politiques en santé publique dans le champ santé/travail

Isabelle CASTELLAN | incastellan@yahoo.fr

Activité indépendante - Hygiène et sécurité au travail - Poissy

Mots clés : Cohorte, prévalence, santé publique, travailleurs précaires, troubles musculo-squelettiques

Les troubles musculo-squelettiques (TMS), pathologies de l'appareil locomoteur potentiellement liées à une hyper-sollicitation d'origine professionnelle, sont considérés comme un enjeu majeur en santé publique et en santé au travail (1). La prévalence de ces troubles a été étudiée en population générale à partir des données de la cohorte Constances, en fonction de caractéristiques démographiques et socioprofessionnelles générales, y compris chez des travailleurs n'ayant pas ou peu d'accès à la médecine du travail, comme les travailleurs intérimaires. Les résultats de cette étude confirment le poids des TMS et donnent des indicateurs sur une partie de la population, nécessaires à l'amélioration des politiques de santé publique. Des indicateurs, tels que la prévalence des douleurs persistantes du membre supérieur, du rachis et du genou ainsi que de l'exposition aux facteurs biomécaniques selon l'âge, la profession, la catégorie sociale et le type de contrat de travail ont été identifiés pour chaque sexe. Ces indicateurs pourraient être utilisés pour renforcer les actions de prévention vis-à-vis de la population générale.

La cohorte Constances a été mise en place pour fournir des informations de santé publique et constituer une infrastructure épidémiologique ouverte à la communauté scientifique de la recherche en épidémiologie. Un accent particulier a été mis sur les déterminants sociaux et professionnels de la santé et sur le vieillissement. La population concernée par l'étude est affiliée au régime général de l'Assurance maladie.

Prévalence des troubles musculo-squelettiques et des facteurs biomécaniques d'origine professionnelle : Premières estimations à partir de Constances.

Carton M. et al. (2016). Bulletin Epidémiologique Hebdomadaire (BEH) 35-36

Résumé

Les troubles musculo-squelettiques (TMS), douleurs, gênes ou limitations de l'appareil locomoteur potentiellement liés à une hyper-sollicitation d'origine professionnelle, sont considérés comme un enjeu majeur tant en santé au travail qu'en santé publique. A cet effet, la cohorte Constances* a été utilisée pour étudier la prévalence de ces troubles dans la population générale, en fonction de caractéristiques démographiques et socioprofessionnelles globales, y compris chez des travailleurs n'ayant pas ou peu d'accès à la médecine du travail, comme les travailleurs intérimaires. Cette cohorte a été mise en œuvre pour contribuer à la recherche épidémiologique, fournir des données de santé publique et constituer une « infrastructure épidémiologique ». Un accent particulier a été mis sur les déterminants sociaux et professionnels de la santé et sur le vieillissement. Pour prendre en compte le poids des sondages et la non-participation, l'échantillon a été restreint à 28 914 personnes tirées au sort entre 2012 et 2013, âgées de 30 à 69 ans. Les symptômes musculo-squelettiques correspondant

à six localisations articulaires ont été recueillis à l'aide d'un questionnaire de style « Nordique* » et se limitent aux douleurs persistantes (2). Les huit facteurs biomécaniques étudiés ont été recueillis selon le consensus européen Saltsa* pour la surveillance épidémiologique des TMS (3) et le programme de surveillance des TMS dans les Pays de la Loire. Les prévalences pondérées de TMS et d'exposition ont été estimées en stratifiant sur quatre variables sociodémographiques (sexe, classes d'âge, profession et catégorie sociale à l'inclusion, type de contrat de travail).

Commentaire

Les troubles musculo-squelettiques (TMS) doivent être intégrés dans une démarche globale de santé publique et de prévention au travail. Pour ce faire, il faut disposer, entre autres, d'outils d'évaluation pour mettre en place des indicateurs sur la population française et les populations vulnérables, telles que les travailleurs vieillissants et les travailleurs précaires, ce que permet la cohorte Constances. Une estimation de la fréquence des TMS persistants du membre supérieur, du rachis et du genou en fonction de caractéristiques démographiques et socioprofessionnelles générales, y compris chez des travailleurs ayant peu accès à la médecine du travail comme les intérimaires, est bien appréciée.

Les résultats obtenus à partir de cette cohorte ont montré un fort gradient de la fréquence d'exposition aux contraintes posturales selon la PCS (Profession et catégorie socioprofessionnelle) : les cadres étaient moins exposés que

les professions intermédiaires (sauf pour le port de charges lourdes par les femmes, où les professions intermédiaires sont plus exposées), les employeurs et les ouvriers. Les artisans occupent une position intermédiaire entre ces trois dernières catégories. Par rapport au type de contrat, les hommes intérimaires (tous types de métiers confondus) sont peu nombreux mais ont le plus souvent des expositions professionnelles de différentes contraintes ; c'est le cas pour les femmes intérimaires avec des gestes de torsion du poignet et de flexion-extension répétées du coude. Les intérimaires présentent les fréquences de douleurs persistantes les plus élevées chez les femmes actives comme chez les hommes actifs par rapport aux autres types de statut et de contrat. Ces données confirment les poids des TMS, particulièrement chez des populations vulnérables, telles que les travailleurs en situation précaire.

CONCLUSION GÉNÉRALE

Les données issues de la cohorte Constances pourront être utilisées pour améliorer les politiques de santé publique, en intégrant les aspects de santé au travail. Les troubles musculo-squelettiques (TMS) constituent aujourd'hui l'une des questions les plus préoccupantes en santé publique (4). Ils représentent de loin la première cause de maladie professionnelle reconnue et sont très coûteux (5).

L'étude a démontré, d'une part, la prévalence élevée de ces troubles dans la population générale et, d'autre part, a apporté des informations inédites sur l'état de santé musculo-squelettique de la population analysée qui couvre des actifs et des inactifs, mais aussi des données sur des travailleurs en situation précaire, comme les travailleurs intérimaires. L'étude ne permet pas d'effectuer une conclusion à ce stade, pour ces travailleurs précaires. Cependant, ces premiers résultats confirment l'intérêt de cette cohorte généraliste en population, complémentaire à d'autres travaux et cohortes existantes, notamment les cohortes Coset-MSA* et Coset-RSI* ainsi que les enquêtes Sumer*. Des indicateurs, tels que la prévalence des douleurs persistantes du membre supérieur, du rachis et du genou et de l'exposition aux facteurs biomécaniques en fonction de l'âge, la profession et catégorie sociale et le type de contrat de travail pourront être utilisés pour renforcer les actions de prévention vis-à-vis de la population générale.

GENERAL CONCLUSION

The data from the Constances cohort could be used to improve the politics in public health, by integrating health aspects and work of the population in a global way. Musculoskeletal disorders (MSDs) constitute one of the most worrisome questions in public health today. They represent by far the first cause of occupational diseases, and are very expensive. The study has demonstrated, on one hand, prevalence of these disorders in the general population and, on the other hand, brought new information on the musculoskeletal health of the population of interest which covers active persons and the non-working population, but also data on workers in precarious situation, in spite of a relatively limited size that does not yet allow a solid general conclusion. However, these first results confirm the interest of such non-specialized cohort throughout the population, being complementary to other works and existing cohorts, such as the Coset-MSA and Coset-RSI cohorts and the Sumer survey. Indicators, such as prevalence in the persistent pain in upper limbs, back and knee and exposure to biomechanical factors according to age, occupation and social category and type of employment contract could be used to strengthen prevention initiatives towards the general population.

Lexique

Constances : cohorte épidémiologique constituée d'un échantillon représentatif de 200 000 volontaires âgés de 18 à 69 ans, tirés au sort parmi les assurés du régime général de la sécurité sociale de 17 départements. Ils passent un examen de santé tous les 5 ans et répondent à un questionnaire tous les ans.

Coset : Cohorte pour la surveillance épidémiologique en lien avec le travail, dont Coset RSI pour les Professions indépendantes et Coset MSA pour les exploitants et salariés agricoles

Questionnaire de type « Nordique » : outil standardisé utilisé par les médecins du travail pour recueillir les symptômes musculo-squelettiques. Il est constitué de questions fermées, et peut être utilisé en auto-questionnaire ou en interview.

Dispositif Saltsa : protocole européen d'examen clinique en vue de diagnostiquer les TMS et identifier les facteurs de risque de TMS du membre supérieur

Publications de référence

1 European Agency for Safety and Health at Work. Work-related musculoskeletal disorders: Back to work report. 2007 <https://osha.europa.eu/fr/tools-and-publications/>

2 M. Carton, G. Santin, A. Leclerc, A. Gueguen : Prévalence des troubles musculosquelettiques et des facteurs biomécaniques d'origine professionnelle

3 Consensus Saltsa :

<http://www.inrs/media.html?refINRS=outil15>.

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11401243>

4

<http://www.risquesprofessionnelles.amelie.fr/fileadmin/userupload/documentPDFatelecharger/brochures/RAPPORT-AT-MP-2015.pdf>

5 Vinck L. Les expositions aux risques professionnels. Les ambiances et contraintes physiques. Enquête Sumer 2010. Synthèse Stat' (Dares). 2014;(8):1-186.

Liens d'intérêts :

Les auteurs déclarent n'avoir aucun lien d'intérêt.

Les troubles musculosquelettiques chez des travailleuses saisonnières : analyse du travail réel dans une perspective du genre

Isabelle CASTELLAN | incastellan@yahoo.fr

Activité indépendante - Hygiène et sécurité au travail - Poissy

Mots clés : Analyse ergonomique, organisation temporelle, travail saisonnier, troubles musculosquelettiques

Le travail saisonnier est reconnu comme un « travail atypique » avec des durées de travail variables, longues et périodiques dans des secteurs à forte saisonnalité. La littérature scientifique apporte peu d'informations permettant une description de l'activité des travailleurs saisonniers et encore moins dans une perspective d'analyse des exigences temporelles du travail et des modalités du temps de travail. Quelques études apportent des données descriptives d'une dégradation de l'état de santé des travailleuses et des travailleurs saisonniers dans le temps, avec l'occurrence de pathologies chroniques telles que des douleurs au dos, dans les genoux et autres articulations (1). Les auteurs de cette étude ont mis en évidence que les travailleuses saisonnières de l'industrie de la transformation du crabe au Canada développaient de graves troubles musculosquelettiques sans pour autant arrêter leur activité. Pour se maintenir au travail, elles mettaient en place diverses stratégies parfois très coûteuses pour leur santé (2). Ces constats amènent à se questionner sur les déterminants des situations de travail en contexte saisonnier, c'est-à-dire, d'un côté la travailleuse saisonnière avec ses propres caractéristiques, et de l'autre, le milieu de travail représenté par l'entreprise, ses règles de fonctionnement, le cadre de réalisation du travail et tout ce qui contribue à l'organisation du travail. L'approche méthodologique de cette étude repose sur une approche ergonomique centrée sur l'analyse de l'activité de travail (3), ce qui a permis d'intégrer une perspective selon le genre* en tenant compte entre autres, de la répartition des tâches entre les femmes et les hommes dans le procédé industriel des usines de transformation du crabe. Par exemple, les postes de femmes sont situés au cœur de la ligne de montage (triage, emballage et pesage). Les hommes occupent des postes liés au déversement des crabes sur la ligne, l'emballage et la congélation des boîtes de crabe (4). Cette compréhension du travail réel selon le genre est d'autant plus importante que l'écart entre le travail prescrit et le travail réalisé est souvent plus grand dans le cas de travailleuses. La démarche ergonomique permet une compréhension fine du travail effectué et dresse un portrait des contraintes et des exigences temporelles de l'activité en s'appuyant sur les déterminants de la situation de travail.

Pour une prévention durable des troubles musculosquelettiques chez des travailleuses saisonnières : prise en compte du travail réel

Major M-E. et al. (2016). Perspectives interdisciplinaires sur le travail et la santé, vol.(18-2): p.6-26

Résumé

Cette recherche compte parmi les rares études qui ont ciblé la prévention des troubles musculosquelettiques (TMS) sous l'angle de l'organisation temporelle du travail. Les déterminants liés au contexte, notamment par des consignes ministérielles qui allouent des quotas et des durées de pêche aux pêcheurs, ont été pris en compte. Les objectifs consistaient à établir un portrait des exigences temporelles du travail saisonnier et d'identifier les déterminants des situations de travail en vue d'une prévention durable des TMS. Dans le cadre d'une analyse de l'activité, 16 travailleuses saisonnières de l'industrie de la transformation du crabe ont été suivies pendant deux années consécutives. L'étude s'appuie sur des données issues d'entretiens individuels, de type semi-dirigé, des observations de l'activité (situation, production et

organisation du travail) et des analyses documentaires. Les résultats ont mis en évidence d'une part, les contraintes liées aux postes de travail dans ce secteur pour les femmes, et d'autre part, que le descriptif partiel et incomplet issu des données de production reste insuffisant pour comprendre ces contraintes temporelles. Les déterminants liés aux politiques publiques, tels que l'indemnisation pour lésions professionnelles et l'assurance-emploi, au-delà du travail lui-même, peuvent avoir des répercussions importantes sur l'activité des travailleuses. L'étude a proposé des éléments méthodologiques pour l'analyse de l'organisation temporelle du travail, tels que l'évolution des heures de travail au cours de la saison, l'intensité du travail et sa variabilité ou encore le nombre de jours consécutifs travaillés sans jour de repos.

Commentaire

L'analyse de l'activité réelle des travailleuses saisonnières a permis de comprendre les contraintes sous l'angle des exigences temporelles d'une part, et d'autre part, d'identifier des déterminants de situations de travail afin de développer une véritable démarche de prévention des risques liés aux troubles musculo-squelettiques. Les auteurs

de cette étude ont permis d'apporter de nouvelles connaissances sur le travail saisonnier des femmes dans l'industrie de la transformation du crabe et sur le travail saisonnier en général. La pénibilité du travail a été mise en évidence en décrivant des contraintes qui demeurent souvent invisibles sans une prise en compte du genre, c'est-à-dire sans la prise en compte du sexe des salariés qui permet d'enrichir l'analyse du travail et l'analyse ergonomique. Les travailleuses ont cumulé de longues heures de travail à des cadences de travail élevées et dans des conditions difficiles (debout, froid, humidité, répétitivité très élevée, maintien statique de postures contraignantes, etc.). Le choix des travailleuses pour l'étude a été effectué en fonction des postes de travail, et dans le but d'obtenir un portrait des situations variées. Tous les cas suivis étaient de sexe féminin et devaient vivre ou avoir vécu des épisodes de douleur au travail.

CONCLUSION GÉNÉRALE

Les avancées méthodologiques obtenues dans cette étude contribuent au développement des connaissances, non seulement dans un contexte saisonnier, mais également pour tout autre type de travail où les questions de temps, de durée ou encore d'organisation temporelle mériteraient d'être analysées et documentées. La compréhension des contraintes liées à la réalisation de l'activité des travailleuses saisonnières et à leur environnement permettraient de proposer des actions de prévention ciblées et pérennes dans une volonté de prévention durable des incapacités liées aux troubles musculosquelettiques qui vise cette population. L'analyse de l'activité réelle au travail à travers l'étude des exigences temporelles, la compréhension des diverses contraintes liées à l'activité et les diverses politiques publiques permet de comprendre le travail pour le transformer (1).

GENERAL CONCLUSION

The methodological advances obtained by this study contribute to the development of the knowledge not only in a seasonal context, but also for different environmental work where the questions of time, length or temporal organization of the work would deserve to be analyzed and documented. The understanding of the diverse constraints connected to the realization of the working activity realized by the seasonal workers and their environment would allow proposing targeted and long-lasting prevention initiatives in relationship musculoskeletal problems of the workers and seasonal workers. The analysis of the real working activity allows understanding the work in order to transform it (1).

Lexique

Genre : Ce mot se réfère aux rapports sociaux du sexe. Pour l'analyse du travail, le genre peut déterminer en partie : des représentations des capacités humaines, le type de formation reçue et le rapport à la formation des travailleurs et des travailleuses, la division sexuelle de l'assignation des tâches et des exigences, des modes opératoires et des stratégies, etc.

TMS (Troubles musculosquelettiques) : Les TMS sont des maladies professionnelles multifactorielles, dont la prévention est complexe. Celle-ci nécessite une démarche en deux phases, l'une de dépistage et l'autre d'intervention. La phase d'intervention fait intervenir la démarche ergonomique proprement dite.

Publications de référence

- 1 Solberg S.M., Vézina, N., Molgaard, J. (2005). Cumulative trauma disorders among crab-processing workers. CARWH, University of British Columbia, Vancouver, B.C., May 16-17. Mimeault, I., Simard, M. (1999). Exclusions légales et sociales des travailleurs agricoles saisonniers véhiculés quotidiennement au Québec. *Relations industrielles*, 54, 2, 388-410.
- 2 St-Vincent, M., Vézina, N., Bellemare, M., Denis, D., Ledoux, E., Imbeau, D. (2011). L'intervention en ergonomie. Éditions Multimondes, Québec, 360 pages.
- 3 Guérin, F., Laville, A., Daniellou, F. Duraffourg, J. Kergueln, A. (2006). Comprendre le travail pour le travail pour le transformer. La pratique de l'ergonomie. Anact, 318 pages.
- 4 Teiger, C., Bernier, C. (1990). Intérêt de l'analyse ergonomique du travail pour la mise en évidence des compétences méconnues : le cas des tâches de saisie dans le tertiaire informatisé. « Sexe faible » ou travail ardu ? Recherches sur la santé et la sécurité des travailleuses.
- 5 Brabant et Messing (dir.), Montréal, ACFAS, Les cahiers scientifiques, n° 70, p. 61-70.

Revue de la littérature

- Mimeault, I., Simard, M. (1999). Exclusions légales et sociales des travailleurs agricoles saisonniers véhiculés quotidiennement au Québec. *Relations industrielles*, 54, 2, 388-410 et Solberg, S. M., Vézina, N., Molgaard, J. (2005). Cumulative trauma disorders among crab-processing workers. CARWH, University of British Columbia, Vancouver, B.C., May 16-17
- Major M.E., Vézina N. (2015). Analysis of worker strategies: a comprehensive understanding for the prevention of work related musculoskeletal disorders. *International Journal of Industrial Ergonomics*, 48, 149-157.

Liens d'intérêts :

- Les auteurs déclarent n'avoir aucun lien d'intérêt

Comité éditorial

Sabine Arbeille et Valérie Pagneux: Irstea – Dir. de la prospective, de la veille, de la valorisation de l'information scientifique et technique, Antony

Catherine Demailly-Mullie : Enseignant-chercheur - Faculté de pharmacie d'Amiens

Hélène Goulard : InVS - Département Santé Travail, Bordeaux

Nathalie Herlin : CEA-CNRS - Laboratoire Francis Perrin (URA 2453), Gif-sur-Yvette

Michel Hery : INRS - Direction générale - Mission veille et prospective, Paris

Lionel Lafay : INCa – Département Observation, veille et évaluation, Boulogne-Billancourt

Caroline Martin : Agreenium- Paris

Anne Masson et Jean-Marc Laurent-VO : ANSM - Agence nationale de sécurité des médicaments et des produits de santé, Saint-Denis

Nathalie Velly : Ineris – Direction des risques chimiques, Verneuil-en-Halatte

Relecteurs

E.Blanc : Inserm, Université Paris Descartes, Paris

J.Bodin : Inserm-Irset, Épidémiologie en santé au travail et ergonomie, Angers

N.Chevalier : Endocrinologie-Diabétologie, Médecine de la reproduction, CHU de l'Archet, Nice

A.Couturier-Tarrade : Inra, Biologie de développement et reproduction, Jouy-en -Josas

I.Desportes : Ademe, Service mobilisation et valorisation des déchets, Angers

N.Dufour : Service de réanimation, Centre hospitalier René Dubos, Pontoise

V.Forest : Centre ingénierie et santé, Ecole des mines, St Etienne

N.Gourlaouen : Anses, Direction des produits réglementés, Maisons-Alfort

MJ. Guerquin : Laboratoire de développement des Gonades, CEA, Université Paris-Diderot, Fontenay-aux-Roses

A.Maître : Laboratoire de toxicologie professionnelle et environnementale, Université Grenoble-Alpes, Grenoble

P.Martin : Unité de chimie environnementale et interaction sur le vivant, Université du littoral Côte d'Opale, Dunkerque

M.Norval : Inserm-Irrset, Épidémiologie en santé au travail et ergonomie, Rennes

F.Piegay : Centre Parot, pneumologie, allergologie et oncologie thoracique, Lyon

L.Sparfel : Faculté des sciences pharmaceutiques et biologiques, Laboratoire de toxicologie, Rennes

N.Vongmany : Anses, Direction des alertes et de la veille sanitaires, Maisons-Alfort

Coordination - Anses

Directeur de publication : Roger Genet

Rédactrice en chef : Anne Tilloy

Comité de rédaction : Anne Tilloy, Armelle Degorges, Gérard Lasfargues

Responsable de l'édition : Fabrice Coutureau

Assistante d'édition: Aurélie Pajon, Aude Estève, Céline Leterq

Retrouvez tous les numéros du *Bulletin de veille scientifique* au format électronique <http://bvs.mag.anses.fr/>, et consultez l'article de votre choix grâce à une recherche ciblée par sujet, auteurs et mots du titre.

Allez au menu Aller au contenu Aller à la recherche Accessibilité Plan du site RECHERCHER

Bulletin de Veille Scientifique

Notes d'actualité Santé / Environnement / Travail

Présentation Tous les numéros Abonnement au BVS Appel à candidatures

NUMÉRO 32 DU BULLETIN DE VEILLE SCIENTIFIQUE

EDITORIAL

Le Bulletin de veille scientifique publie régulièrement l'actualité scientifique, telle que perçue par ses chercheurs ou agents ou notes de terrain. Cette rubrique de sujets variés, abordés conjointement en lien avec l'actualité de l'actualité.

AU SOMMAIRE

AGENTS PHYSIQUES

- Transfert de nanomatériaux dans les chaînes alimentaires
Auteur : Corinne LABRE
- Effets des nanoparticules d'argent sur les communautés bactériennes
Auteur : Laurence VERMS
- Impacts des nanotubes de carbone sur la santé : relation structure-effets inflammatoires
Auteur : Anne IRADJ ZIANE ZAROUR

AGENTS CHIMIQUES

- Evaluation de procédés biologiques et chimiques utilisés pour la dégradation des pesticides contaminants de l'eau afin de limiter les effets sur l'environnement
Auteur : Jean-Christophe GARRIGUES

Le Biphédonal 5, utilisé comme substitut au Biphédonal 4 présente-t-il le même caractère obésigène

Allez au menu Aller au contenu Aller à la recherche Accessibilité Plan du site RECHERCHER

Bulletin de Veille Scientifique

Notes d'actualité Santé / Environnement / Travail

Présentation Tous les numéros Abonnement au BVS Appel à candidatures

2012 2013 2014 2015 2016 2017 2018

31 du Bulletin de Veille Scientifique : mai 2017 >>>

32 du Bulletin de Veille Scientifique : oct. 2017 >>>

ACTUALITÉS

COMITE EDITORIAL

Sabine ARBEILLE, Catherine DEMALLY-MULLIE, Michel HERY, Nathalie HERLIN, Hélène GOUILLARD, Lionel LAFAY, Anne MASSON, Caroline MARTIN, Valérie PAGNEUX, Nathalie VÉLÉY

Pour vous inscrire au *Bulletin de veille scientifique*, remplissez le formulaire disponible sur le site Internet du BVS, vous recevrez un mail à chaque nouveau numéro.

Si vous souhaitez devenir auteur dans le BVS, remplissez le dossier de candidature disponible sur le site Internet du BVS. Il est à renvoyer rempli à (bulletin-veille@anses.fr).

Allez au menu Aller au contenu Aller à la recherche Accessibilité Plan du site RECHERCHER

Bulletin de Veille Scientifique

Notes d'actualité Santé / Environnement / Travail

Présentation Tous les numéros Abonnement au BVS Appel à candidatures

APPEL À CANDIDATURES

L'Anses a lancé le 18 septembre 2017 un appel à candidatures d'auteurs de notes à paraître dans l'un des bulletins de veille scientifique de l'année 2018. L'appel à candidatures est ouvert jusqu'au 24 novembre 2017.

Rôle des auteurs

Chaque auteur choisit une problématique qui lui semble d'intérêt. Pour rédiger une note "standard" du BVS, il sélectionne deux à trois publications internationales portant sur cette problématique, parues pendant une période de veille de quelques mois. Il les résume et amorce une discussion sur les points qu'il juge pertinents pour un commentaire. D'autre part l'auteur rédige une introduction générale à la problématique qu'il a choisie, et une conclusion générale qui fait le lien entre les publications choisies, et propose une mise en perspective des résultats dans le contexte de la sécurité sanitaire.

Les notes sont relues par des évaluateurs extérieurs et la validation finale est faite par le Comité Editorial. Chaque note acceptée pour publication finale donne lieu à une rémunération équivalente à 5 vacations brut.

Pour candidater

Si vous souhaitez devenir auteur dans le BVS :

- vous pouvez voir les numéros déjà publiés sur le site du BVS
- les consignes pour candidater sont disponibles,
- la liste des thématiques pour orienter votre veille est disponible ici,
- le dossier de candidature est accessible en cliquant ici, il est à renvoyer rempli à (bulletin-veille@anses.fr)

ACTUALITÉS

COMITE EDITORIAL

Catherine DEMALLY-MULLIE, Michel HERY, Nathalie HERLIN, Hélène GOUILLARD, Lionel LAFAY, Anne MASSON, Caroline MARTIN, Valérie PAGNEUX, Nathalie VÉLÉY

anses Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail

S'inscrire au BVS

Pour vous inscrire au bulletin de veille scientifique, merci de remplir le formulaire ci dessous :

Vous recevrez un mail à chaque nouveau numéro

Prénom *

Nom *

Courriel *

Organisme *

Fonction

* : Champs obligatoires

Utilisation des données personnelles

Les données personnelles vous concernant restent strictement confidentielles. Elles sont uniquement utilisées par les services de l'Anses et ne sont pas communiquées à des tiers.

Conformément aux articles 38 et suivants de la loi n°78-17 du 6 janvier 1978 relative à l'informatique, aux fichiers et aux libertés modifiée et à son décret d'application n° 2005-1306 du 20 octobre 2005 modifié, vous disposez d'un droit d'opposition, d'accès et de rectification aux données vous concernant. Ce droit s'exerce auprès de la Direction de l'information, de la communication et du dialogue avec la Société de l'Anses par pourier.electronique@anses.fr

Désinscription

Vous pouvez vous désinscrire à tout moment de la lettre d'information, via un lien figurant en fin de lettre.

Valider

Le *Bulletin de veille scientifique* de l'Anses (*BVS*) est un recueil de notes en français revues par les pairs, dans lesquelles des experts en santé-environnement, santé-travail, font une analyse critique de deux à trois publications internationales parues pendant une période de veille récente de quelques mois. L'auteur présente dans chaque note une introduction générale de la problématique, suivie pour chaque publication, d'un résumé et d'un commentaire dans lequel les points pertinents sont analysés. Enfin, une conclusion générale fait le lien entre les publications choisies, et propose une mise en perspective des résultats.

Le *BVS* produit en collaboration avec le réseau des partenaires de l'Anses, a pour objectif principal de diffuser une information actualisée et validée en appui aux politiques publiques. Il s'adresse à tous, décideurs, chercheurs, représentants du milieu associatif ou entrepreneurs.

