

- Et à un stade plus âgé (plus de vingt-quatre semaines).

Résultats

L'exposition périnatale aux pesticides n'a pas affecté le poids corporel ni l'homéostasie énergétique chez les souris âgées de 6 et 14 semaines. Par contre les animaux présentent dès le sevrage (âgés de 21 jours) des biomarqueurs pro inflammatoires au niveau hypothalamique.

Les animaux nourris avec un aliment riche en graisse et en sucre (HFD) ont un poids corporel augmenté et présentent des troubles métaboliques comparativement aux animaux nourris avec un régime standard. Cependant, les perturbations métaboliques induites par le régime HFD sont similaires entre les souris exposées aux pesticides ou non pendant les périodes périnatales.

Par contre, l'exposition maternelle aux pesticides a induit chez les souris adultes (nourries avec un régime contrôle) des altérations spécifiques en fonction du sexe et de l'âge du métabolome urinaire et fécal, suggérant des changements durables dans le microbiote intestinal. De plus l'exposition maternelle à ce cocktail de pesticides, a induit des chez les animaux mâles âgés de 14 mois des modifications neurophysiologiques significatives.

Cocktail de pesticides et stéatose hépatique

Effets d'une exposition chronique à faible dose d'un cocktail de pesticides sur l'accumulation hépatocytaire de lipides et le métabolisme des xénobiotiques

Bernard FROMENTY, Inserm U1241, Institut NuMeCan, Université de Rennes 1

Les partenaires : **Pascal Loyer**, Institut NuMeCan / **Nicole Baran**, BRGM

Projet de recherche expérimentale en cours depuis le 27 mai 2019 – Financement Écophyto: 199.943 €
– Contact : bernard.fromenty@inserm.fr

Mots-clés : foie, pesticide, xénobiotique, toxicité, exposition chronique, faible dose, métabolisme, cytochrome P450, biotransformation, interaction, lipide, triglycéride, stéatose hépatique, stéatohépatite non alcoolique, chlorpyrifos, diméthoate, diazinon, manèbe, mancozèbe

Exprimés principalement dans le foie, les cytochromes P450 (CYPs) sont des protéines qui participent à la transformation biologique de nombreuses substances dites « xénobiotiques »¹³⁹ (ex. polluants, pesticides, médicaments) et contribuent ainsi à la détoxification de l'organisme vivant. Il est à noter que cette biotransformation peut générer des molécules inoffensives mais également des molécules très toxiques pour les hépatocytes, les principales cellules du foie.

L'activité de certains CYPs peut être altérée dans certaines maladies hépatiques, et en particulier au cours de la stéatose¹⁴⁰ liée à l'obésité (encore appelée NAFLD, pour « *nonalcoholic fatty liver disease* »). Cette lésion est bénigne à court terme mais elle peut évoluer à long terme vers des maladies

¹³⁹ Molécules étrangères à l'organisme vivant, non produites par l'organisme lui-même.

¹⁴⁰ Cette maladie hépatique correspond à une accumulation de lipides, principalement sous forme de triglycérides.

hépatiques parfois sévères, notamment la stéatohépatite, la cirrhose et le cancer.

Des xénobiotiques comme l'alcool éthylique et certains médicaments sont connus pour modifier l'activité des CYPs, entraîner une stéatose hépatique sur un foie sain (i.e. non-stéatosée), ou majorer une NAFLD déjà existante chez un sujet obèse. Ces différents effets peuvent être induits par des mécanismes indépendants, parfois complexes.



Illustration 20 : Effets hépatiques des pesticides les plus rencontrés dans l'alimentation (Source : iStockphoto)

Effets hépatiques des pesticides

Dans le cadre d'un projet collaboratif précédent¹⁴¹, nous avons mis en évidence qu'un « cocktail » de sept pesticides, parmi les plus rencontrés dans l'alimentation européenne¹⁴², pouvait favoriser une progression tumorale de cellules souches mésenchymateuses (CSM).

Même si certains de ces pesticides sont métabolisés au niveau du foie par les CYPs, les effets de ces molécules sur l'activité des CYPs et le métabolisme des lipides sont largement inconnus à ce jour. Il est donc important de connaître les effets hépatiques de ces pesticides, seuls ou en mélange, notamment du fait de la prévalence de l'obésité et de la

NAFLD dans la population générale. Dans ce contexte, deux questions importantes se posent :

- Quel est l'impact des pesticides à faibles doses, seuls ou en mélange, sur l'apparition d'une stéatose ou l'aggravation d'une NAFLD ?
- Quel est l'impact de ces pesticides sur l'activité des CYPs et la biotransformation des substances actives du « cocktail » ?

Le projet de recherche : PESTIFAT

Le projet PESTIFAT, qui implique des équipes ayant des expertises complémentaires¹⁴³, permettra notamment de connaître l'impact d'une exposition chronique aux pesticides seuls ou en mélange¹⁴⁴ sur les activités des principaux CYPs et sur l'accumulation de triglycérides, ou l'aggravation d'une NAFLD préexistante. Les investigations sont réalisées sur des cellules hépatiques humaines¹⁴⁵ qui possèdent la plupart des CYPs et qui peuvent accumuler des lipides par différents mécanismes.

Méthodologie

1. Des cellules HepaRG, stéatosées¹⁴⁶ ou non, sont exposées pendant 14 jours à de faibles doses de pesticides, seuls ou en mélange, afin d'établir leurs effets sur le contenu en triglycérides, les concentrations d'ATP¹⁴⁷, la formation des espèces réactives de l'oxygène, l'expression de marqueurs d'inflammation et la respiration mitochondriale. Ainsi, seront évalués l'apparition ou l'aggration

¹⁴³ Évaluation de la toxicité, mécanismes de la NAFLD, étude du métabolisme et mesure analytique des substances actives dans différentes matrices biologique et environnementale.

¹⁴⁴ Même cocktail que pour le projet PeNiCa

¹⁴⁵ Modèle hépatocellulaire : lignée HepaRG (cellules d'un hépatome humain).

¹⁴⁶ Par exposition à un mélange d'acides gras.

¹⁴⁷ Adénosine triphosphate : nucléotide constitué de trois molécules d'acide phosphorique, riche en énergie.

¹⁴¹ Projet PeNiCa financé par le Canceropôle Grand Ouest (Coordinateur, Prof Olivier Hérault, CNRS ERL 7001, Tours).

¹⁴² Selon l'EFSA : Chlorpyrifos-Ethyl, Diméthoate, Diazinon, Iprodione, Imazalil, Manèbe et Mancozèbe (Journal, 2010).

d'une stéatose et éventuellement les mécanismes associés.

2. La biotransformation des différents pesticides sera étudiée sur les cellules stéatosées ou non, après des expositions uniques ou répétées afin de savoir :
 - a. Si une exposition chronique influence la biotransformation de ces pesticides ;
 - b. S'il existe des interactions entre les différents pesticides ;
 - c. Si la NAFLD perturbe la biotransformation de certains pesticides.

Résultats préliminaires

Différentes expériences de mise au point du modèle expérimental ont été d'abord réalisées afin de sélectionner les concentrations permettant l'étude d'une exposition chronique des pesticides. Les résultats préliminaires ensuite obtenus suggèrent que le cocktail est capable d'induire une stéatose sur les cellules HepaRG et de plus qu'il majore la stéatose sur des cellules incubées en présence d'acides gras (modèle « NAFLD »). Une cytotoxicité du cocktail, évaluée grâce à la mesure de l'ATP, est également observée et celle-ci semble majorée dans le modèle « NAFLD ».

Les microARN circulants comme bioindicateurs d'exposition aux HAP seuls et en mélange

Utilisation des MiARN circulants comme indicateurs d'exposition aux hydrocarbures aromatiques polycycliques seuls et en mélange

Lydie SPARFEL, Irset-Inserm UMR S 1085, Université de Rennes 1, Rennes

Les partenaires : Pr **Anne Maître**, UMR 5525 TIMC-IMAG, CNRS, Grenoble INP, CHU Grenoble Alpes, Université Grenoble Alpes

Projet de recherche en cours (depuis 2020) –
Financement : 200 K€ – Contact :
lydie.sparfel@univ-rennes1.fr

Mots-clés : hydrocarbure aromatique polycyclique, microARN, biomarqueurs, exposition, polluant, toxicité, cellules sanguines, fluides biologiques, *in vitro*, *in vivo*, urine, expérimentation animale, mélanges, évaluation risque

Par son environnement, à la fois professionnel et domestique, l'homme est exposé aux hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAP), contaminants majeurs de notre environnement. Cette famille de composés organiques, qui a pour chef de file, le benzo[*a*]pyrène, possède la particularité d'être présente dans l'environnement sous forme de mélanges, plus ou moins complexes et variant selon les lieux et les sources d'émission. Il apparaît alors difficile d'évaluer clairement l'exposition humaine à ces mélanges.

La toxicité des mélanges

L'évaluation des risques sanitaires liés à l'exposition aux mélanges d'HAP reste également mal maîtrisée :

- D'une part, parce que la composition de ces mélanges reste souvent méconnue ;
- D'autre part, parce que les données disponibles sur les effets induits par ces mélanges sont relativement peu