

# JOURNÉE SCIENTIFIQUE WEBINAIRE

## Dédiée aux Jeunes Toxicologues – 31 Mars 2022

**9h15-9h30 Connexion des participants sur Zoom**

**9h30-10h15 Place de la toxicologie en France  
Pr Bernard Salles**

**10h15-10h55 Flash communications : 8 présentations**

**Philomène Despréaux** - *Impact des particules fines sur les mécanismes épigénétiques après expositions répétées d'épithéliums humains reconstruits d'origine bronchique.*

**Florence Jacob** - *Toxicological impact of secondary organic aerosols formed from the reaction of limonene with ozone.*

**Emma Theerens** - *Environmental factors involved in Parkinson's disease: air pollution-derived ultrafine particles induce ferroptosis in differentiated human dopaminergic neuronal lung cells.*

**Gianni Zarcone** - *Comparaison de la toxicité et des effets transcriptomiques des émissions de tabac chauffé, de cigarette électronique et de cigarette sur des cellules épithéliales bronchiques humaines.*

**Emeline Barbier** - *Transcriptomic alterations trigger lung inflammation and tissue remodelling in mice exposed to air pollution-derived PM<sub>2.5</sub>.*

**Albana Boutamba-Mbina** - *Effets TOXiques de particules de combustion: développement de tests in vitro pour l'évaluation de la bioaccessibilité d'Hydrocarbures Aromatiques Polycycliques par Inhalation – HAPITOX.*

**Nour Jaber** - *Caractérisation, compréhension et modélisation de la toxicité des mélanges de BTEX.*

**Clémence Méausoone** - *Evaluation de la toxicité respiratoire de fumées d'incendie de type industriel par une approche in vitro.*

**10h55-11h05 Pause**

**11h05-12h20 Présentation des Doctorants en 3<sup>ème</sup> année**

**11h05 : Violaine Martin De Lagarde**

*Pyrotechnic smokes particles exposures induced oxidative stress in a 3D model of primary pulmonary epithelial cells.*

**11h20 : Hélène Barthel**

*Influence of physical parameters of multi-wall carbon nanotubes on their toxicological properties in a model of bronchial epithelial cells. Association with lung effects in rats.*

**11h35 : Margaux Cochard**

*Toxicité de particules fines atmosphériques d'influences portuaire, industrielle et de zones urbaines sur des cellules pulmonaires.*

**11h50 : Carine El Hajjar**

*The biological effects of repeated exposure of Normal Human Bronchial Epithelial (NHBE) cells to the PM10 fraction of indoor dust.*

**12h05 : Eléonore Guillet**

*La maturation des cellules dendritiques humaines induite par les nanoparticules de silice amorphe synthétiques est dépendante de la kinase Syk.*

**12h20-13h30 Déjeuner**

## 13h30-14h05 Flash communications : 7 présentations

**Jérémy Amosse** - *Characterization of Extracellular Vesicles released by Peripheral Blood Mononuclear Cells exposed to Polycyclic Aromatic Hydrocarbons and study of their interaction with endothelial cells.*

**Maria Lteif** - *Immunogénicité des anticorps thérapeutiques : rôle antigénique des agrégats d'infliximab.*

**Jessica Dalmasso** - *La fonction endocrine trophoblastique : indicateur biologique de la toxicité de l'alcoolisation prénatale sous-estimé ?*

**Yannick Dauwe** - *Potentiel stéatogène et perturbations métaboliques liées aux contaminants environnementaux de type pesticide et alkylsperfluorés.*

**Flavien Delaporte** - *In vitro evaluation of acute and chronic liver toxicity of lipid nanocapsules: what formulation for a better biocompatibility ?*

**Brendan Le Dare** - *Evaluation of hepatic steatosis as a risk factor for hepatic adverse events during hydroxychloroquine therapy: from in vitro to in vivo approach.*

**Sophie Rose** - *Hepoid : an advanced 3D human hepatocytes spheroid model relevant for acute and long-term toxicity analysis.*

## 14h05-15h50 Présentation des Doctorants en 3<sup>ème</sup> année

14h05 : **Kilian Petitjean**

*Manganese-dependent effects of the fungicides maneb and mancozeb on cellular viability, lipid accumulation and drug metabolism in human hepatocytes.*

14h20 : **Clémence Rives**

*Impact des pesticides sur les événements biologiques impliqués dans le développement des hépatopathies métaboliques.*

14h35 : **Hélène Le Mentec**

*La larve de poisson zèbre comme modèle pour cribler de potentiels perturbateurs endocriniens impliqués dans l'initiation et la progression pathologique des maladies non alcooliques du foie.*

14h50 : **Charbel Touma**

*Deregulation of liver lipid metabolism in Hepoid-HepaRG by endocrine disruptors.*

15h05 : **Maguy El Hajjar** *Etude des métabolites urinaires du benzo[a]pyrène chez le rat après une exposition subchronique au benzo[a]pyrène seul ou inclus dans un mélange industriel complexe d'hydrocarbures aromatiques polycycliques.*

15h20 : **Rima Souki**

*Impact of benzo[a]pyrene on microRNA profiles in human peripheral blood mononuclear cells and their discharged extracellular vesicles.*

15h35 : **Anaëlle Torres**

*Systèmes in vitro d'évaluation des risques liés à l'exposition à des substances chimiques (nanomatériaux).*

## 15h50-16h00 Pause

## 16h00-16h45 Présentation des Doctorants en 3<sup>ème</sup> année

16h00 : **Noémie Bonneau**

*Compartmentalized microfluidic culture of trigeminal neurons and corneal epithelial cells as an alternative method to assess ocular surface toxicity.*

16h15 : **Lorena Lopez Suarez**

*Effects of environmental pollutants on SH-SY5Y in vitro neurodevelopmental model.*

16h30 : **Sophie Fouyet**

*Human placental model and endocrine disruptors: role of the P2X7 cell receptor in hormonal disturbances.*

## 16h45 – 17h30 Table Ronde « Les différents métiers en Toxicologie »

**Fanny Boisleve, Arthur Grivel, Chloé Raffalli et Matthew Burbank**

# Table des matières

Characterization of Extracellular Vesicles released by Peripheral Blood Mononuclear Cells exposed to Polycyclic Aromatic Hydrocarbons and study of their interaction with endothelial cells., Jérémy Amossé . . . . .	4
TRANSCRIPTOMIC ALTERATIONS TRIGGER LUNG INFLAMMATION AND TISSUE REMODELING IN MICE EXPOSED TO AIR POLLUTION-DERIVED PM2.5, Emeline Barbier [et al.] . . . . .	5
Influence of physical parameters of multi-wall carbon nanotubes on their toxicological properties in a model of bronchial epithelial cells. Association with lung effects in rats., Hélène Barthel [et al.] . . . . .	6
Compartmentalized microfluidic culture of trigeminal neurons and corneal epithelial cells as an alternative method to assess ocular surface toxicity, Noémie Bonneau [et al.] . . . . .	7
Effets TOXiques de particules de combustion: développement de tests in vitro pour l'évaluation de la bioaccessibilité d'Hydrocarbures Aromatiques Polycycliques par Inhalation - HAPITOX, Albana Boutamba-Mbina . . . . .	9
Toxicité de particules fines atmosphériques d'influences portuaire, industrielle et de zones urbaines sur des cellules pulmonaires, Margaux Cochard [et al.] . . . . .	10
La fonction endocrine trophoblastique : indicateur biologique de la toxicité de l'alcoolisation prénatale sous-estimé ?, Jessica Dalmasso [et al.] . . . . .	11
In vitro evaluation of acute and chronic liver toxicity of lipid nanocapsules: what formulation for a better biocompatibility?, Flavien Delaporte [et al.] . . . . .	12
Impact des particules fines sur les mécanismes épigénétiques après expositions répétées d'épithéliums humains reconstruits d'origine bronchique, Philomène Despréaux [et al.] . . . . .	13
The biological effects of repeated exposure of Normal Human Bronchial Epithelial (NHBE) cells to the PM10 fraction of indoor dust, Carine El Hajjar [et al.] . . . . .	14

Etude des métabolites urinaires du benzo[a]pyrène chez le rat après une exposition subchronique au benzo[a]pyrène seul ou inclus dans un mélange industriel complexe d'hydrocarbures aromatiques polycycliques., Maguy El Hajjar [et al.] . . . . .	15
Human placental model and endocrine disruptors: role of the P2X7 cell receptor in hormonal disturbances, Sophie Fouyet [et al.] . . . . .	16
La maturation des cellules dendritiques humaines induite par les nanoparticules de silice amorphe synthétiques est dépendante de la kinase Syk., Eléonore Guillet [et al.] . . . . .	17
<b>TOXICOLOGICAL IMPACT OF SECONDARY ORGANIC AEROSOLS FORMED FROM THE REACTION OF LIMONENE WITH OZONE, Florence Jacob [et al.]</b>	<b>18</b>
Evaluation of hepatic steatosis as a risk factor for hepatic adverse events during hydroxychloroquine therapy: from in vitro to in vivo approach, Brendan Le Dare [et al.] . . . . .	19
La larve de poisson zèbre comme modèle pour cribler de potentiels perturbateurs endocriniens impliqués dans l'initiation et la progression pathologique des maladies non alcooliques du foie., Hélène Le Mentec [et al.] . . . . .	20
Effects of environmental pollutants on SH-SY5Y in vitro neurodevelopmental model, Lorena Lopez Suarez [et al.] . . . . .	21
Immunogénicité des anticorps thérapeutiques : rôle antigénique des agrégats d'infliximab., Maria Lteif [et al.] . . . . .	22
Evaluation de la toxicité respiratoire de fumées d'incendie de type industriel par une approche in vitro, Clémence Meausoone . . . . .	23
Pyrotechnic smokes particles exposures induced oxidative stress in a 3D model of primary pulmonary epithelial cells, Violaine Martin De Lagarde [et al.] . . . . .	24
Manganese-dependent effects of the fungicides maneb and mancozeb on cellular viability, lipid accumulation and drug metabolism in human hepatocytes, Kilian Petitjean [et al.] . . . . .	25
Impact des pesticides sur les événements biologiques impliqués dans le développement des hépatopathies métaboliques, Clémence Rives [et al.] . . . . .	26
Hepoid : an advanced 3D human hepatocytes spheroid model relevant for acute and long-term toxicity analysis, Sophie Rose [et al.] . . . . .	28
Impact of benzo[a]pyrene on microRNA profiles in human peripheral blood mononuclear cells and their discharged extracellular vesicles., Rima Souki [et al.] . . . . .	29

Systèmes in vitro d'évaluation des risques liés à l'exposition à des substances chimiques (nanomatériaux), Anaëlle Torres [et al.] . . . . .	30
ENVIRONMENTAL FACTORS INVOLVED IN PARKINSON'S DISEASE: AIR POLLUTION-DERIVED ULTRAFINE PARTICLES INDUCE FERROPTOSIS IN DIFFERENTIATED HUMAN DOPAMINERGIC NEURONAL LUHMES CELLS, Emma Theerens [et al.] . . . . .	31
Deregulation of liver lipid metabolism in Hepoid-HepaRG by endocrine disruptors, Charbel Touma [et al.] . . . . .	32
Comparaison de la toxicité et des effets transcriptomiques des émissions de tabac chauffé, de cigarette électronique et de cigarette sur des cellules épithéliales bronchiques humaines, Gianni Zarcone [et al.] . . . . .	33
Potentiel stéatogène et perturbations métaboliques liées aux contaminants environnementaux de type pesticide et alkylsperfluorés, Yannick Dauwe . . . . .	34
Caractérisation, compréhension et modélisation de la toxicité des mélanges de BTEX, Nour Jaber [et al.] . . . . .	35
<b>Liste des auteurs</b>	<b>35</b>

# Characterization of Extracellular Vesicles released by Peripheral Blood Mononuclear Cells exposed to Polycyclic Aromatic Hydrocarbons and study of their interaction with endothelial cells.

Jérémy Amossé \* <sup>1</sup>

<sup>1</sup> Institut de recherche en santé, environnement et travail – Structure Fédérative de Recherche en Biologie et Santé de Rennes, Institut National de la Santé et de la Recherche Médicale : U1085, École des Hautes Études en Santé Publique [EHESP], Université de Rennes 1, Université d'Angers – France

Polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) are ubiquitous environmental pollutants resulting from the incomplete combustion of organic matter. Several studies have highlighted the toxic properties of these contaminants on the human health, such as carcinogenic and immunosuppressive effects for the prototypical PAH benzo[*a*]pyrene (B[*a*]P). Our previous data reported that circulating cells such as Peripheral Blood Mononuclear Cells (PBMC) are targeted by PAHs exposure.

A growing body of evidences show a clinical role of extracellular vesicles (EV), present in the body fluids, in cell communication. They are small membrane-limited structures released by cells into the extracellular compartment, and can interact and transfer their content in targeted cells. In this context, we were interested to determine the impact of PAHs on the release of EVs by PBMCs and to explore their role in toxicity mediated by these contaminants, especially on neighboring cells such as endothelial ones.

First, we highlighted the capacity of PBMC to secrete extracellular vesicles: microvesicles and exosomes. Moreover, exposure of the cells to B[*a*]P for 48h increased this secretion in contrast to exposure to Pyrene, a non-carcinogenic PAH.

Then, the ability of these vesicles to be internalized by targeted cells was demonstrated by fluorescence transfer of labelled vesicles into Hmec-1 endothelial cells. This result opens the possibility of transferring the contents of EV-derived from PBMC to endothelial cells. The ongoing study of the transferred molecules, notably the transfer of functional miRNA, and the study of their effects on these targeted cells may highlight the effects of PBMC-derived EVs in cell communication.

**Mots-Clés:** Polycyclic aromatic hydrocarbon, PBMC, endothelial cells, communication

---

\*Intervenant

# TRANSCRIPTOMIC ALTERATIONS TRIGGER LUNG INFLAMMATION AND TISSUE REMODELING IN MICE EXPOSED TO AIR POLLUTION-DERIVED PM2.5

Emeline Barbier \*<sup>1</sup>, Sébastien Anthérieu<sup>1</sup>, Pierre Gosset<sup>2</sup>, Ophélie Simonin<sup>1</sup>, Céline Grare<sup>1</sup>, Jessica Carpentier<sup>1</sup>, Laurent Y Alleman<sup>3</sup>, Esperanza Perdrix<sup>3</sup>, Jean-Marc Lo Guidice<sup>1</sup>, Guillaume Garcon<sup>1</sup>

<sup>1</sup> CHU Lille, Institut Pasteur de Lille, ULR 4483 - IMPact de l'Environnement Chimique sur la Santé (IMPECS), Lille, France – Université de Lille – France

<sup>2</sup> Service d'Anatomo-pathologie, Hôpital Saint Vincent de Paul, Lille, France – CHU de Lille – France

<sup>3</sup> IMT Lille Douai, Center for Energy and Environment, Lille, France – Université de Lille – France

The role of air pollution-derived fine particulate matter (PM2.5) in chronic lung diseases is now well-known. However, some of the underlying molecular mechanisms remain to be determined. In this work, mRNA and miRNA expression profiles were investigated in the lungs of mice acutely or sub-chronically exposed to PM2.5. A/J mice (male, SOPF, 10 weeks, n = 6/group) were exposed by intranasal instillation either for 24h to 10  $\mu$ g of PM2.5 or for 28 days to 12 x 10  $\mu$ g of PM2.5. Mice were sacrificed either 24h after acute exposure, or 24h or 2 months after sub-chronic exposure. 3'-RNASeq and bioinformatics were used to identify the activation of some critical signaling pathways in lungs. Differentially regulated mRNAs were found in the lungs of mice acutely (18 up- and 12 down-regulated) or sub-chronically exposed (86 up- and 5 down-regulated). Some of them were still differentially deregulated 2 months after exposure cessation (33 up- and 5 down-regulated). Differentially regulated miRNAs were reported in the lungs of mice acutely and sub-chronically exposed (2 up- and 5 down-regulated, and 26 up- and 1 down-regulated, respectively). Two months after exposure cessation, 3 up- and 4 down- differentially regulated miRNAs were reported yet. As supported by immunohistochemical analyses of the inflammatory marker DMBT1 and the cell proliferation marker Ki67, all the transcriptomic alterations induced by acute and mostly sub-chronic exposure to PM2.5, could dramatically contribute to the lung development/exacerbation of inflammation and, thereafter, to cell proliferation, tissue remodeling, and possibly cancer, even 2 months after exposure cessation.

**Mots-Clés:** Air pollution derived PM2.5, Acute and subchronic exposures, Mouse lung, mRNA/miRNA expression, Inflammation, Tissue remodeling, Cancer.

---

\*Intervenant

# Influence of physical parameters of multi-wall carbon nanotubes on their toxicological properties in a model of bronchial epithelial cells. Association with lung effects in rats.

Hélène Barthel \* <sup>1,2</sup>, Christian Darne <sup>1</sup>, Laurent Gaté <sup>1</sup>, Athanase Visvikis <sup>2</sup>, Carole Seidel <sup>1</sup>

<sup>1</sup> Institut national de recherche et de sécurité (Vandoeuvre lès Nancy) – Institut national de recherche et de sécurité (Vandoeuvre lès Nancy) – France

<sup>2</sup> Ingénierie Moléculaire et Physiopathologie Articulaire – Université de Lorraine, Centre National de la Recherche Scientifique : UMR7365 – France

As the use of multi-wall carbon nanotubes (MWCNT) is increasing, inhalation exposure during industrial processes concerns about their adverse health effects due to their physico-chemical properties and their biopersistence. The aim of this thesis was to assess the influence of the diameter and length of MWCNTs on their toxic effects. To do this an *in vitro* model using human bronchial epithelial cells in culture was developed. The cells were treated for six weeks with two MWCNTs: a short and thin (NM-403) and a long and thick (Mitsui-7). From the first week of treatment genotoxic effects including increases in abnormal mitoses and micronucleus formation were scored. At the sixth week of treatment an EMT was installed as demonstrated by the modifications of specific gene expression and changes in cell morphology. The EMT state was reversed after four weeks of culture in the absence of MWCNTs. In parallel, MWCNT-induced toxicity was evaluated in wild-type and heterozygous rats for p53 following intratracheal instillations of Mitsui-7 or NM-403. Three days post-exposure, acute pulmonary inflammation was observed with both MWCNTs. Interestingly, the inflammation was persistent 8 months after exposure to NM-403, whereas it was resolved in the group exposed to Mitsui-7, independently of the genotype. Histopathological analyses did not reveal any typical interstitial fibrosis. However, collagen deposition and granuloma formation were evident 8 months after exposure to both MWCNTs.

**Mots-Clés:** Carbon nanotubes, genotoxicity, epithelial, mesenchymal transition, BEAS, 2B, heterozygous p53+/, rats, pulmonary toxicity.

---

\*Intervenant



# Compartmentalized microfluidic culture of trigeminal neurons and corneal epithelial cells as an alternative method to assess ocular surface toxicity

Noémie Bonneau \*<sup>1,2</sup>, Anaïs Potey<sup>3</sup>, Jean-Michel Peyrin<sup>4</sup>, Christophe Baudouin<sup>1,5,6</sup>, Annabelle Réaux-Le Goazigo<sup>1</sup>, Françoise Brignole-Baudouin<sup>1,5,7</sup>

<sup>1</sup> Sorbonne Université, INSERM, CNRS, IHU Foresight, Institut de la Vision, 17 rue Moreau, F-75012 Paris, France – Sorbonne Universités, UPMC Univ Paris 06, INSERM, CNRS, Institut de la Vision, 17 rue Moreau, F-75012 Paris – France

<sup>2</sup> Horus Pharma – Horus Pharma – France

<sup>3</sup> Sorbonne Université, INSERM, CNRS, IHU Foresight, Institut de la Vision, 17 rue Moreau, F-75012 Paris, France – Sorbonne Universités, UPMC Univ Paris 06, INSERM, CNRS, Institut de la Vision, 17 rue Moreau, F-75012 Paris – France

<sup>4</sup> Neurosciences Paris Seine, UMR8246, Inserm U1130, IBPS, UPMC, Sorbonne Université, 4 Place Jussieu, 75005, Paris, France – Neurosciences Paris Seine – France

<sup>5</sup> Centre Hospitalier National d’Ophtalmologie des Quinze-Vingts, INSERM-DGOS CIC 1423, IHU Foresight, 28 rue de Charenton, F-75012 Paris, France – Centre Hospitalier National d’Ophtalmologie des Quinze-Vingts – France

<sup>6</sup> Université Versailles-Saint-Quentin-en-Yvelines, Hôpital Ambroise Paré, APHP, F-92100 Boulogne-Billancourt, France – Université de Versailles Saint-Quentin-en-Yvelines – France

<sup>7</sup> Université de Paris, Faculté de Pharmacie, Paris, France – Université de Paris – France

In ocular toxicity, mild or low irritants cannot be distinguished through current validated alternative methods. Our aim was to develop a compartmentalized microfluidic model of trigeminal ganglion (TG) and corneal epithelial cells mimicking corneal epithelium and to assess toxicity of Benzalkonium chloride (BAC).

We established a coculture between adult C57BL/6 mice TG cells and corneal epithelial cells. After 7d of TG cell culture in proximal compartment (PC), epithelial cells were seeded in distal compartment (DC) for 24h before toxic exposure. Using a low concentration of BAC (5.10-4%) applied in DC, we modeled ocular acute (AE; 6h) and chronic exposures (CE; BID for 5d). CQ1 confocal microscope allowed high resolution 3D structure evaluation of PAN-stained nerve fibers, cytokeratin3-positive epithelial cells and p-ERK cell activation marker.

After 8d of culture, we observed a dense 3D axonal network embedded in corneal epithelial cells layers. BAC AE led to a nerve beading phenomenon while BAC CE induced a major decrease of the density of nerve endings and epithelial cells in the DC as it is seen in mice and patients receiving BAC containing eyedrops. Furthermore, p-ERK increased in PC TG cells after BAC CE in the DC.

This new tool mimicking corneal epithelium, exposed to various toxicants, could represent a potential method to evaluate low irritants in order to anticipate Toxicity-Induced Dry Eye, the first step of ocular response to a toxic. After standardization studies, this compartmentalized microfluidic device could be included in the TIDE Integrated Approaches to Testing and Assess-

---

\*Intervenant

ment.

**Mots-Clés:** Microfluidic, BAC, TIDE, IATA, Ocular toxicity

# Effets TOXiques de particules de combustion: développement de tests in vitro pour l'évaluation de la bioaccessibilité d'Hydrocarbures Aromatiques Polycycliques par Inhalation - HAPITOX

Albana Boutamba-Mbina \* <sup>1</sup>

<sup>1</sup> UR4651 - Aliments Bioprocédés Toxicologie Environnements (ABTE), équipe ToxEMAC (Toxicologie de l'Environnement Milieux Aériens et Cancers), Université de Rouen Normandie, 22 Boulevard Gambetta 76183 Rouen Cedex – Christelle Monteil, Tiphaine Rogez-Florent – France

Parmi les polluants atmosphériques, les particules de l'air (PM) demeurent préoccupantes compte tenu de leurs effets sur la santé. Actuellement, la réglementation repose sur la surveillance des concentrations massiques des particules grossières (PM10, diamètre  $\leq 10\mu\text{m}$ ) et des particules fines (PF, PM2.5, diamètre  $\leq 2.5\mu\text{m}$ ). Cette réglementation ne concerne donc pas les particules ultrafines (PUF, diamètre  $\leq 0.1\mu\text{m}$ ) qui pourtant peuvent se déposer profondément dans l'appareil respiratoire et elle ne prend pas en compte non plus la composition chimique des PM. Pourtant, les PM sont constituées de nombreux composés chimiques dont des hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAPs) issus de combustions incomplètes. Associés aux PM, des HAPs peuvent après inhalation pénétrer dans l'arbre respiratoire, se déposer dans les fluides pulmonaires extracellulaires, pénétrer dans le compartiment cellulaire et y induire des effets, ou encore être internalisés avec les particules. La quantité de HAPs libérée dans les fluides biologiques peut ainsi être disponible à l'absorption ou induire localement une toxicité sur les cellules respiratoires. Il est par conséquent intéressant de déterminer cette fraction dite " bioaccessible " et d'en évaluer l'intérêt prédictif en cas de pic de pollution. Dans ce contexte, le but de ce projet de recherche est de développer une méthode acellulaire d'évaluation de la bioaccessibilité par inhalation d'HAPs associés à des PF et PUF et de mettre en évidence la pertinence de la détermination de ce marqueur comme outil prédictif de la toxicité respiratoire des particules par des tests cellulaires utilisant un modèle de cellules épithéliales bronchiques humaines, les cellules BEAS-2B.

**Mots-Clés:** Bioaccessibilité, HAPs, particules fines et ultrafines, toxicité respiratoire, Beas, 2b

---

\*Intervenant

# Toxicité de particules fines atmosphériques d'influences portuaire, industrielle et de zones urbaines sur des cellules pulmonaires

Margaux Cochard \* <sup>1</sup>, Frédéric Ledoux <sup>1</sup>, Dominique Courcot <sup>1</sup>, Yann Landkocz <sup>1</sup>

<sup>1</sup> Unité de chimie Environnementale et interactions sur le vivant – Université du Littoral Côte d'Opale – France

L'exposition aux particules fines atmosphériques (PM2.5) est connue depuis de nombreuses années pour ses effets néfastes sur la santé. Selon les sources d'émission, la composition chimique des PM2.5 peut varier. Le but de ce travail est d'étudier les réponses toxicologiques selon l'origine des PM2.5, sur des cellules pulmonaires A549.

Ces cellules ont été exposées à des extraits organiques et des fractions hydrosolubles de PM2.5 collectées sur 4 sites influencés par des émissions urbaines, industrielles, du trafic routier, et portuaire et trafic maritime. La caractérisation chimique des particules a montré des différences en termes de composition selon l'influence, notamment en métaux et hydrocarbures aromatiques polycycliques.

L'étude de la mortalité cellulaire *in vitro* ne montre aucune différence significative par la mesure de la LDH dans le surnageant. Toutefois, la viabilité des cellules mesurée par la quantification de l'ATP a été altérée. D'autre part, selon l'influence, la cytotoxicité des particules n'est pas la même.

L'inflammation et la métabolisation des PM2.5 a été testée en quantifiant plusieurs cytokines pro-inflammatoires (IL-6, TNF- $\alpha$  et IFN- $\gamma$ ) et l'expression génique et protéique de plusieurs CYP450 respectivement.

Ce travail est financé par l'ADEME (Convention no. 1962C0005) et la région Hauts-de-France.

**Mots-Clés:** PM2.5, Caractérisation physico chimique, Cytotoxicité, Stress oxydant, enzyme métabolisant des xénobiotiques

---

\*Intervenant

# La fonction endocrine trophoblastique : indicateur biologique de la toxicité de l'alcoolisation prénatale sous-estimé ?

Jessica Dalmasso \* <sup>1</sup>, Jean Guibourdenche <sup>2</sup>, Bruno Gonzalez <sup>3</sup>, Sophie Gil

<sup>1</sup> Unité INSERM 1139 3PHM, Université Sorbonne Paris Cité, France – Université Paris V - Paris Descartes – France

<sup>2</sup> Service d'Hormonologie, CHU Cochin, HUPC, AP-HP, Paris, France – Hôpital Cochin – France

<sup>3</sup> Unité INSERM U1245, CHU Rouen, France – UNIROUEN, CHU Rouen – France

En France, le syndrome d'alcoolisme foetal (SAF), en général la conséquence d'une consommation d'alcool chronique pendant la grossesse, touche 2‰ des naissances. C'est l'atteinte la plus sévère, caractérisée par des anomalies morphologiques, des atteintes neurologiques sévères et des troubles neurocognitifs et neurocomportementaux. Cependant, des femmes consomment de manière " involontaire " en début de grossesse ou de manière " festive " en dose unique ou encore de manière sporadique. A ce jeu du hasard, certains enfants ont développé des troubles neurocognitifs et neurocomportementaux. L'ensemble de ces troubles causés par l'alcoolisme foetal (TCAF) a permis un nouvel axe d'étude de l'exposition prénatale à l'alcool (EPA). En France, les TCAF représentent 1% des naissances. Les enfants TCAF, contrairement aux SAF ne présentent pas d'anomalies morphologiques ce qui rend leur diagnostic ardu et souvent tardif. Dès lors l'enjeu majeur de la recherche sur la toxicité de l'alcool est de trouver des biomarqueurs de l'exposition du fœtus pour prendre en charge précocement ces enfants. Le projet ALCOBRAIN porté par le Dr Gonzalez a pour but d'étudier la toxicité de l'alcool sur le placenta et le cerveau foetal. Dans ce projet, mon travail de doctorat a pour but d'étudier l'impact fonctionnel de la consommation d'alcool pendant la grossesse sur le placenta humain. Notamment, l'étude de la fonction endocrine trophoblastique, essentielle au bon développement du fœtus, nous permet de mettre en évidence une hormone sous-estimée dans son rôle physiopathologique dans le cadre de la recherche de biomarqueur d'alcoolisation prénatale.

**Mots-Clés:** TCAF, Toxicologie placentaire, Trophoblaste, Fonction endocrine, Biomarqueurs, ALCOBRAIN

---

\*Intervenant

# In vitro evaluation of acute and chronic liver toxicity of lipid nanocapsules: what formulation for a better biocompatibility?

Flavien Delaporte \* <sup>1</sup>, Emilie Roger , Frédéric Lagarce , Camille Savary

<sup>1</sup> Micro et Nanomédecines Translationnelles – Université d’Angers : UMRS1066 UMR6021, Institut National de la Santé et de la Recherche Médicale : UMR1066, Centre National de la Recherche Scientifique : UMR6021 – France

Lipid nanocapsules (LNCs) represent a great interest to treat various diseases, involving notably chronic treatment. LNCs allow an improved targeting while decreasing the active drug’s side effects. However, they partially accumulate in the liver after intravenous administration, regardless of size and composition [1][2]. The objective of this study is to find the optimal LNCs formulation, without non-specific side effects, to specifically target cancer cells with a high biocompatibility. Thus, we exposed HepG2 cells (cancer cells with low metabolic activity only used for acute exposure) and HepaRG cells (high metabolic activity over one month after differentiation) to different LNCs after acute and chronic exposition in order to answer the following questions: are there (i) a size effect? (ii) a composition effect? (iii) chronic effects after repeated exposure?

We focused on cell viability evaluation, kinetics and pathways of internalization after exposure with different sizes (45-50 and 100nm) and oily core compositions (Captex®8000 or Transcutol®HP) LNCs.

After 24h exposure, LNCCaptex® 100nm induced less toxicity than LNCCaptex® 50nm on both cell lines despite faster internalization. In both models, no difference was observed on cell viability regarding the composition effect after acute exposure, but LNCCaptex® 50nm seemed to be more toxic than LNCTranscutol® 45nm after one month exposure. LNCs mainly enter via caveolin-mediated endocytosis: the use of genistein (caveolin inhibitor) could block around 55% of LNCsinternalization.

To conclude, inducing less toxicity on differentiated cells and allowing a higher drug loading, LNCCaptex® 100nm are the most promising candidate for cancer targeted therapy.

**Mots-Clés:** Lipid nanocapsules, toxicity, liver

---

\*Intervenant

# Impact des particules fines sur les mécanismes épigénétiques après expositions répétées d'épithéliums humains reconstruits d'origine bronchique

Philomène Despréaux \* <sup>1</sup>, Margueritta Al Zallouha <sup>1</sup>, Dorota Desaulle <sup>2</sup>,  
Capucine Jeanton <sup>1</sup>, Anthony Verdin <sup>3</sup>, Fabrice Cazier <sup>4</sup>, Dominique  
Courcot <sup>3</sup>, Isabelle Momas <sup>1</sup>, Sophie Achard <sup>1</sup>

<sup>1</sup> Équipe HERA (Health Environmental Risk Assessment) – CRESS, UMR-1153, Inserm, Université de Paris – France

<sup>2</sup> Laboratoire de Biomathématiques – Université Paris Descartes Faculté de Pharmacie de Paris – France

<sup>3</sup> Unité de Chimie Environnementale et Interactions sur le Vivant EA4492 – Université Littoral Côte d'Opale, SFR Condorcet FR CNRS 3417 – France

<sup>4</sup> Centre Commun de Mesures (CCM) – Université Littoral Côte d'Opale – France

**Contexte :** L'exposition aux polluants particulaires influe de manière significative sur les pathologies respiratoires. Parmi ces polluants, les particules fines jouent un rôle important dans le développement de telles pathologies, et notamment de l'asthme, de par leurs caractéristiques physicochimiques : leur granulométrie les conduit vers l'arbre bronchique et les composés chimiques adsorbés à leur surface leur prodiguent un fort potentiel oxydant. Outre les désordres inflammatoires, des modifications épigénétiques semblent se mettre en place.

A l'aide d'une approche *in vitro* originale, notre **objectif** est de rechercher, des marques épigénétiques pouvant intervenir dans le développement de l'asthme, suite à des expositions répétées à des particules fines de diverses influences.

**Méthode :** Le modèle utilisé est un épithélium humain reconstruit à partir de cellules bronchiques issues de sujets " sain " ou " asthmatique ". Des expositions répétées à des particules fines d'influence " industrie " ou " trafic " ont été réalisées. Chaque fin de semaine, des épithéliums ont été sacrifiés pour évaluer l'activité cellulaire et moléculaire.

**Résultats :** Une modulation des gènes impliqués dans la méthylation de l'ADN et la modification des histones (marques épigénétiques) est observée et semble être fonction du nombre d'exposition, de la concentration et de la chimie des particules. Les changements dans l'expression de certains gènes des épithéliums " sains " exposés peuvent se rapprocher de celle des épithéliums " asthmatiques " non exposés, soit d'un développement de pathologie.

**Mots-Clés:** Particules fines, Approche in vitro, Épithéliums humains reconstruits d'origine bronchique, Modifications épigénétiques

---

\*Intervenant

# The biological effects of repeated exposure of Normal Human Bronchial Epithelial (NHBE) cells to the PM10 fraction of indoor dust

Carine El Hajjar \* <sup>1</sup>, Ivannah Pottier , Tiphaine Rogez-Florent , Virginie Séguin , Véronique André

<sup>1</sup> Aliments Bioprocédés Toxicologie Environnements – Université de Caen Normandie : EA4651 – France

Exposure to indoor air pollution is associated with adverse health effect. In this study, differentiated Normal Human Bronchial Epithelial cells (NHBE) cultured at the air–liquid interface (ALI) were repeatedly and cumulatively exposed to indoor PM10 fraction of a Standard Reference Material (SRM 2585, "Organic contaminants in house dust") using a novel aerosol-to-cell exposure system, the Cloud Max system that use a single nebulization producing a cloud. This approach allows more relevant and realistic conditions compared to traditional submerged exposure via culture medium.

Since various toxicants were adsorbed onto SRM 2585 (such as PAHs, PCB, PBDE, chlorinated pesticides or phosphorous flame retardants), the toxic effects of four daily repeated exposures to PM10 (0.1, 1 and 10  $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ ) were evaluated after the last day of exposure (day 4) and post-exposure (day 8 & day 11), in order to characterize transient or delayed responses.

First, intrinsic properties of PM10 were determined in acellular conditions. A mild oxidative capacity was observed and high level of endotoxins were detected. Second, different cellular responses were evaluated. Our results have shown no significant modification in cytotoxicity and Trans Epithelial Electric Resistance (TEER), at any day of the analysis. Preliminary results have suggested limited inflammation effects. Thus, despite their complex composition, PM10 fraction of indoor dust seemed to have a moderate toxic impact in differentiated NHBE cells, even after repeated exposures. Cell response to oxidative stress and genotoxicity will also be assessed on NHBE cells, as well as mucus production to further investigate toxic effects.

**Mots-Clés:** NHBE, Air, liquid interface, indoor PM10, Repeated exposures, Delayed responses

---

\*Intervenant



# Etude des métabolites urinaires du benzo[a]pyrène chez le rat après une exposition subchronique au benzo[a]pyrène seul ou inclus dans un mélange industriel complexe d'hydrocarbures aromatiques polycycliques.

Maguy El Hajjar \* <sup>1</sup>, Anne Maitre <sup>1</sup>, Marie Marques <sup>1</sup>, Renaud Persoons <sup>1</sup>,  
Christine Demeilliers <sup>1</sup>

<sup>1</sup> Université Grenoble Alpes – Laboratoire TIMC-IMAG, Domaine de la Merci, 38706 La Tronche  
Cedex – France

Les hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAP) sont des polluants environnementaux émis en mélanges. L'exposition dans la population générale se fait surtout via la cigarette et les aliments grillés. Les expositions professionnelles proviennent essentiellement des dérivés de houille. Le benzo[a]pyrène (B[a]P) est le seul HAP classé cancérigène certain pour l'homme (CIRC). Le 3-hydroxybenzo[a]pyrène (3-OHB[a]P) représente la voie de détoxification du B[a]P, tandis que le tétraol-B[a]P représente la voie cancérigène. L'objectif est d'étudier le métabolisme du B[a]P lorsqu'il est ingéré seul ou dans un mélange complexe.

Des rats sont exposés pendant 10 semaines à 0,02 ou 0,2 mg.kg-1.J-1 de B[a]P (respectivement 0,02-B[a]P, 0,2-B[a]P) ou à un mélange de HAP extrait d'un produit industriel dérivé du brai de houille ajusté à 0,2 mg.kg-1.J-1 de B[a]P (0,2-CTP). Les concentrations urinaires de 3-OHB[a]P et tétraol-B[a]P sont analysées par HPLC-Fluo et GC-MS/MS.

Pendant la première semaine d'exposition, les concentrations urinaires des 2 métabolites augmentent proportionnellement avec la dose mais leur élimination est significativement réduite de moitié avec le mélange 0,2-CTP par rapport au 0,2-B[a]P.

Après 10 semaines, les pourcentages d'élimination des 2 métabolites par rapport à la dose ingérée sont augmentées pour 0,02-B[a]P. Alors que la diminution de l'élimination du tétraol-B[a]P observée la première semaine avec le 0,2-CTP est conservée, le pourcentage du 3-OHB[a]P est le même entre le 0,2-B[a]P et le mélange 0,2-CTP.

Ces résultats soulignent l'importance d'utiliser un modèle réaliste d'exposition pour étudier le métabolisme du B[a]P et son influence sur le processus cancérigène : mélange de HAP, longue durée d'exposition et faibles doses.

**Mots-Clés:** benzo[a]pyrène, effet cocktail, faible dose, exposition subchronique, 3, OHB[a]P, tétraol, B[a]P

---

\*Intervenant

# Human placental model and endocrine disruptors: role of the P2X7 cell receptor in hormonal disturbances

Sophie Fouyet \* <sup>1,2</sup>, Elodie Olivier <sup>1</sup>, Pascale Leproux <sup>1</sup>, Mélody Dutot <sup>1,3</sup>,  
Patrice Rat <sup>1</sup>

<sup>1</sup> UMR CNRS 8038, Laboratoire de Chimie-Toxicologie Analytique et Cellulaire – Université de Paris – France

<sup>2</sup> Recherche Développement – Laboratoires Léa Nature, Périgny – France

<sup>3</sup> Recherche Développement – Yslab, Quimper – France

During pregnancy, women are daily exposed to endocrine-disrupting chemicals (EDCs). Consequently, EDCs are found in several maternal tissues such as placenta where they can accumulate. Exposure to EDCs during pregnancy can lead to many adverse pregnancy outcomes such as preterm birth and preeclampsia. Our previous studies, using hPlacentox model, have shown that the activation of the P2X7 cell death receptor, which has been reported in the literature to trigger the above-mentioned pregnancy outcomes, is a common key element of placental toxicity induced by chemically different EDCs. As EDCs disturb by definition hormones in endocrine organs, our objective was to assess the potential link between the hormonal disturbances and the P2X7 receptor activation in human endocrine placental cells. We first studied the *in vitro* effects of hormone supplementation on P2X7 receptor activation. We incubated human placental JEG-Tox cells for 72h with three steroid hormones, estradiol, progesterone, and testosterone, or a polypeptide hormone,  $\beta$ -human Chorionic Gonadotropin ( $\beta$ -hCG). P2X7 receptor activation was then measured. Second, we studied the *in vitro* effects of P2X7 receptor inhibition on hormone release induced by EDCs. Human placental JEG-Tox cells were incubated for 72h with different EDCs and P2X7 receptor activation was inhibited using an antagonist. The release of estradiol, progesterone,  $\beta$ -hCG and human Placental Lactogen hormone, were measured. Our results show that hormones affect the P2X7 receptor activation in placental cells and vice versa. The present study demonstrates a link between the activation of the P2X7 receptor and hormone disturbances induced by EDCs in placental model.

**Mots-Clés:** endocrine, disrupting chemicals, P2X7 receptor, hormonal disturbances and placental toxicity

---

\*Intervenant

# La maturation des cellules dendritiques humaines induite par les nanoparticules de silice amorphe synthétiques est dépendante de la kinase Syk.

Eléonore Guillet \* <sup>1</sup>, Natacha Szely <sup>1</sup>, Emilie Brun <sup>2</sup>, Céline Ferard <sup>2</sup>, François-Xavier Legrand <sup>3</sup>, Marc Pallardy <sup>1</sup>, Armelle Biola-Vidamment <sup>1</sup>

<sup>1</sup> Université Paris-Saclay, Inserm, Inflammation, Microbiome and Immunosurveillance, Faculté de Pharmacie 92290, Chatenay-Malabry – INSERM UMR 996 : Equipe2 – France

<sup>2</sup> Université Paris-Saclay, CNRS, Institut de Chimie Physique, 91405, Orsay – CNRS : UMR8000 – France

<sup>3</sup> Université Paris-Saclay, CNRS, Institut Galien Paris-Saclay, 92296, Chatenay-Malabry – Université Paris-Saclay, CNRS, Institut Galien Paris-Saclay (UMR 8612), Châtenay-Malabry, France – France

Les travailleurs et la population générale étant exposés quotidiennement aux nanoparticules de silice amorphe (SAS-NP), une meilleure évaluation de leur toxicité est nécessaire. Les cellules dendritiques (DC) capturent et présentent les antigènes de manière immunogène ou tolérogène. En présence de " signaux de danger ", elles subissent une maturation permettant leur migration vers les nœuds lymphatiques où elles déclencheront la réponse lymphocytaire T. Notre travail évalue *in vitro* le rôle adjuvant des SAS-NP dans le déclenchement ou l'exacerbation des pathologies respiratoires allergiques.

Nous avons montré que les SAS-NP favoriseraient les deux premières étapes de la réponse immunitaire adaptative, suggérant qu'elles se comporteraient comme des " signaux de danger " immunologiques. Nous souhaitons identifier les voies de signalisation impliquées dans la maturation des DC exposées aux SAS-NP. Comme la phosphorylation de la spleen tyrosine kinase (Syk) joue un rôle dans la maturation des DC, nous formulons l'hypothèse que Syk serait impliquée dans la réponse des DC aux SAS-NP.

Les DC humaines issues de monocytes ont été exposées à des doses croissantes de SAS-NP jusqu'à 120 minutes. Syk est phosphorylée dès 30 minutes alors que c-Jun N-Terminal (JNK) et p38 MAPK (mitogen activated protein kinase) sont phosphorylées plus tardivement (90 minutes), suggérant une phosphorylation en aval de Syk. Dans les DC exposées aux SAS-NP en présence ou non d'un inhibiteur de Syk, nous observons une diminution significative de leur maturation. Ces résultats suggèrent que l'activation de la protéine Syk jouerait un rôle central dans la réponse des DC aux SAS-NP.

**Mots-Clés:** silice amorphe synthétique, cellules dendritiques, signaux de danger, nanoparticules, Syk

---

\*Intervenant

# TOXICOLOGICAL IMPACT OF SECONDARY ORGANIC AEROSOLS FORMED FROM THE REACTION OF LIMONENE WITH OZONE

Florence Jacob \* <sup>1,2</sup>, Laurent Alleman <sup>2</sup>, Esperanza Perdrix <sup>2</sup>, Sébastien Anthérieu <sup>1</sup>, Guillaume Garçon <sup>1</sup>, Alexandre Tomas <sup>2</sup>, Jean-Marc Lo Guidice <sup>1</sup>

<sup>1</sup> CHU Lille, Institut Pasteur de Lille, ULR 4483- IMPact de l'Environnement Chimique sur la Santé humaine (IMPECS) – Université de Lille – France

<sup>2</sup> Institut Mines-Télécom, Univ. Lille, Centre Energie et Environnement, 59000 Lille, France – IMT Nord Europe – France

Secondary organic aerosols (SOAs), which can represent up to 90% of the organic carbon mass in PM<sub>2.5</sub>, are currently being studied to determine their impact on pulmonary toxicity. Indeed, their harmfulness is still poorly known, whereas their concentration in the atmosphere should raise in the future because of the concomitant increase of the emissions of volatile organic compounds (VOCs) precursors and the oxidizing capacity of the atmosphere in connection with the climate change. As VOCs of biogenic origin contribute to 90% of global emissions, we chose to work first on a model of biogenic SOAs resulting from the ozonolysis of limonene. SOAs were generated in a flow reactor under weak and strong oxidation conditions in order to evaluate their toxicity in relation to their physicochemical characteristics. The oxidative potential (OP) of SOAs were measured through cell-free methods using antioxidant depletions (dithiothreitol, ascorbic acid) or a fluorescent probe (carboxyl-H<sub>2</sub>DCF-DA). In addition, *in vitro* toxicity tests were conducted on BEAS-2B cells. Two subtoxic doses of SOAs at 9 and 14  $\mu\text{g}/\text{cm}^2$  of cell layer (10 % and 20 % lethal concentration, respectively) were selected to evaluate the cellular effects of the particles after exposure during 6h, 24h or 48h. Oxidative stress was assessed by measuring intracellular reactive oxygen species, oxidized/reduced glutathione ratio and oxidative damage (4-hydroxynonenal adduct and carbonylated proteins). Our preliminary results indicate that biogenic SOAs generated in low oxidation condition have a higher intrinsic OP and induce greater cellular oxidative stress than those generated in high oxidation condition.

**Mots-Clés:** secondary organic aerosols, limonene, oxidative potential, oxidative stress, pulmonary toxicity

---

\*Intervenant

# Evaluation of hepatic steatosis as a risk factor for hepatic adverse events during hydroxychloroquine therapy: from *in vitro* to *in vivo* approach

Brendan Le Dare \*<sup>1,2</sup>, Julie Bronsard<sup>1</sup>, Romain Pelletier<sup>1,3</sup>, Isabelle Morel<sup>1,3</sup>, Karin Tarte<sup>4</sup>, Florian Reizine<sup>5</sup>, Bruno Clement<sup>1</sup>, Bernard Fromenty<sup>1</sup>, Thomas Gicquel<sup>1,3</sup>, Pierre-Jean Ferron<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Nutrition, Métabolismes et Cancer – Université de Rennes 1, Institut National de la Santé et de la Recherche Médicale : U1241, Institut National de Recherche pour l’Agriculture, l’Alimentation et l’Environnement – France

<sup>2</sup> Pôle Pharmacie, Centre Hospitalier Universitaire de Rennes – CHU Rennes – France

<sup>3</sup> Laboratoire de Toxicologie biologique et Médico-Légale – CHU Rennes – France

<sup>4</sup> UMR U1236-MICMAC, laboratoire d’immunologie et thérapie cellulaire, Université de Rennes, F-35033 Rennes – Université de Rennes I – France

<sup>5</sup> Service de Maladies Infectieuses et Réanimation Médicale, Centre Hospitalier Universitaire de Rennes, F-35033 Rennes – CHU Rennes – France

Pathophysiological conditions of an individual may alter drug pharmacokinetic parameters, including its metabolism and toxicity. In the context of the SARS-CoV2 epidemic, obese patients, who often present metabolic-associated fatty liver disease (MAFLD), a large spectrum of liver lesions including simple fatty liver (i.e. steatosis) and nonalcoholic steatohepatitis, has been shown to be at risk for severe COVID-19 disease and consequent hospitalization. In Rennes University Hospital, several drugs such as hydroxychloroquine (HCQ) have been used in the clinical trial HARMONICOV to treat COVID-19 patients, including obese patients. The aim of this study is to determine whether HCQ metabolism and hepatotoxicity are worsened in obese patients using an *in vivo/in vitro* approach. The molecular networking visualization tool has been used to study drug metabolism *in vitro* (HepaRG cells) and *in vivo* (patient’s plasma). The *in vitro* HepaG cell model has also been used to study HCQ cytotoxicity and to reproduce pathophysiological features of obese patient metabolism, i.e. in condition of hepatic steatosis. Metabolic signature of HCQ was modified in HepaRG cells cultured under steatotic conditions, and two new metabolites have been detected: carboxychloroquine and desethylchloroquine. In addition, 100  $\mu$ M HCQ induced significant cytotoxicity in HepaRG cells exposed to exogenous fatty acids, while neutral lipid accumulation (steatosis) was further enhanced in these cells. These *in vitro* data were compared with the biological parameters of 17 COVID-19 patients treated with HCQ included in the HARMONICOV cohort. Overall, our data suggest that steatosis may be a risk factor for altered drug metabolism and toxicity.

---

\*Intervenant

# La larve de poisson zèbre comme modèle pour cribler de potentiels perturbateurs endocriniens impliqués dans l'initiation et la progression pathologique des maladies non alcooliques du foie.

Hélène Le Mentec <sup>\*</sup>, Emmanuelle Monniez, Antoine Legrand, Maelle  
Bescher, Dominique Lagadic-Gossmann <sup>1</sup>, Normand Podechard

<sup>1</sup> Institut de recherche en santé, environnement et travail – Structure Fédérative de Recherche en  
Biologie et Santé de Rennes, Institut National de la Santé et de la Recherche Médicale : U1085, École  
des Hautes Études en Santé Publique [EHESP], Université de Rennes 1, Université d'Angers – France

Les maladies non alcooliques du foie (NAFLD) touchent 25% de la population mondiale (jusqu'à 80% des personnes atteintes d'obésité) et sont donc un problème majeur de santé publique. Le premier stade des NAFLD est la stéatose hépatique, état bénin caractérisé par une accumulation de gouttelettes lipidiques dans les hépatocytes. Celle-ci peut évoluer en stéatohépatite, stade pathologique caractérisé par la mort des hépatocytes et l'inflammation, propice au développement de cirrhoses et cancers. De nombreuses données suggèrent que l'exposition aux perturbateurs endocriniens (PE), contaminants auxquels l'homme est continuellement exposé, agirait sur les NAFLD. Afin d'étudier leurs effets sur ces maladies, nous développons deux tests biologiques chez la larve de poisson-zèbre pour évaluer l'impact de 10 PE dans ce contexte pathologique. Le premier test (StAZ) vise à déterminer la capacité des PE à induire une stéatose, par quantification des lipides hépatiques. Cette méthode nous a permis de confirmer l'effet stéatogène de certaines molécules (Bisphénol [BPA], insecticides [DDE]). Concernant leurs modes d'actions, l'analyse de l'expression de gènes suggère une perturbation du métabolisme des lipides (notamment une augmentation de la lipogenèse *de novo*). Le second test (ShAZ) a pour but d'identifier les PE capables de favoriser la progression de la stéatose vers la stéatohépatite. Pour cela, des marqueurs caractéristiques de cette pathologie seront suivis, *i.e.* la mort cellulaire, le stress oxydant et l'inflammation. Dans l'ensemble, ces études devraient permettre de mieux comprendre les mécanismes d'action des PE pour *in fine* aider les agences de santé publique à la prise de décision quant à leur réglementation.

**Mots-Clés:** Perturbateurs endocriniens, NAFLD, zebrafish

---

\*Intervenant

# Effects of environmental pollutants on SH-SY5Y in vitro neurodevelopmental model

Lorena Lopez Suarez \* <sup>1</sup>, Sana Al Awabdh \*

, Caroline Chauvet , Xavier Coumoul

<sup>1</sup> INSERM UMR-S 1124 Eq. 1 - Université de Paris – IRD-Université Paris Descartes, Inserm UMR-S 1124 – France

Humans are exposed to various environmental pollutants for which there is often a lack of information regarding the effects of combined chronic low-dose exposure. Brain development is particularly sensitive to any disruption and several pollutants have been linked to its impairment. The present work, as part of the Neurosome European network, was aimed to better understand the molecular and cellular neurotoxic impacts of mixtures of pollutants by using the SH-SY5Y human neuroblastic cell line. SH-SY5Y cells were differentiated into neuron-like cells by sequential treatment with retinoic acid and brain-derived neurotrophic factor. Cells were exposed, from the onset of differentiation and for 9 days, to a mixture of 8 environmentally representative pollutants comprising inorganic (methylmercury, lead, manganese) and organic compounds (benzene, three phthalates, bisphenol A). Three versions of this mixture were used, depending on the doses calculated by mathematical modelling of expected mean (H. mean) and maximal (H. max) concentrations in human brain and 10 times the maximal concentration (H. 10x max). Cytotoxicity and cell death were determined using MTS assay and cytometry. H. 10x max caused apoptotic cell death and was excluded from the following assays. The effects on gene expression were assessed through RNAseq and immunocytochemistry (ICC) was used to assess neurite outgrowth and synapse formation. H. max affected transcripts related with important functions including synaptogenesis, and axonal disruption was showed by ICC. The results obtained support the concept that developmental neurotoxicity can act at non-cytotoxic doses and they are especially significant since the mixture and concentrations used are environmentally representative.

**Mots-Clés:** environmental pollutants, neurodevelopment, neurotoxicity, neuroblasts, RNAseq

---

\*Intervenant

# Immunogénicité des anticorps thérapeutiques : rôle antigénique des agrégats d'infliximab.

Maria Lteif \* <sup>1</sup>, Cecile Tardif <sup>2</sup>, Myriam Nabhan <sup>1</sup>, Marc Pallardy <sup>1</sup>, Claire Smadja <sup>2</sup>, Isabelle Turbica <sup>1</sup>

<sup>1</sup> Université Paris Saclay, INSERM, Inflammation, Microbiome, Immunosurveillance, Faculté de Pharmacie, 92290 Châtenay-Malabry, France. – INSERM UMR 996 – France

<sup>2</sup> Université Paris Saclay, CNRS, Institut Galien Paris Saclay, 92290 Châtenay-Malabry, France. – Université Paris-Saclay, CNRS, Institut Galien Paris-Saclay (UMR 8612), Châtenay-Malabry, France – France

Les patients traités par les anticorps (Ac) thérapeutiques développent fréquemment une réponse immunitaire aboutissant à la production d'Ac dirigés contre le principe actif administré ou ADA (pour anti-drug antibodies). Ces ADA peuvent avoir une action neutralisante sur l'Ac thérapeutique résultant en une perte de la réponse clinique et/ou un développement d'effets secondaires. La présence d'ADA de haute affinité suggère la mise en place d'une réponse immunitaire adaptative spécifique impliquant notamment des cellules dendritiques (DC) et des lymphocytes T CD4+ (LT CD4+).

La présence d'agrégats dans les spécialités administrées serait un des facteurs favorisant l'immunogénicité des Ac thérapeutiques. Dans cette perspective, nous avons produit et caractérisé des agrégats d'infliximab (IFX), un anti-TNF- $\alpha$  montrant une immunogénicité élevée en clinique. Nous avons montré que ces agrégats n'induisent pas la maturation de DC humaines dérivées de monocytes. En revanche, en utilisant un modèle de co-culture autologue DC/LT CD4+, nous avons mis en évidence une fréquence de LT CD4+ en réponse aux agrégats supérieure à celle des LT CD4+ répondants au monomère d'IFX, indiquant que l'agrégation pourrait augmenter le nombre de LT CD4+ naïfs recrutés. Ceci suggère que la présence d'agrégats d'Ac induirait des modifications en termes de quantité et/ou de variété des épitopes présentés par les DC.

Par ailleurs, l'internalisation de ces agrégats par les DC a été analysée par cytométrie en flux. Les résultats montrent qu'elle s'effectue principalement par endocytose, et qu'elle semble être plus importante comparée à l'Ac natif. L'étude des voies de signalisation induites dans les DC viendront compléter ces résultats.

---

\*Intervenant



# Evaluation de la toxicité respiratoire de fumées d'incendie de type industriel par une approche *in vitro*

Clémence Meausoone \* <sup>1</sup>

<sup>1</sup> ABTE ToxEMAC – Laboratoire ABTE – France

Les incendies industriels peuvent générer de nombreux produits de combustion, volatils et particulaires, présents en mélange dans l'atmosphère. Des effets sur la santé respiratoire peuvent rapidement s'observer chez des personnes exposées et des études épidémiologiques peuvent évaluer, a posteriori, les potentiels impacts sur la santé des populations. Il existe cependant très peu d'études expérimentales permettant de comprendre les mécanismes biologiques impliqués dans les effets toxiques et leurs conséquences, en fonction des conditions de combustion. L'objectif de ce projet est de développer un outil expérimental pour l'étude de la toxicité respiratoire des fumées d'incendie industriel. Nous testerons la possibilité d'exposer des cellules pulmonaires humaines BEAS-2B en interface air/liquide à des fumées issues d'un incendie recréé expérimentalement. Deux mélanges d'huiles minérales, avec ou sans additifs, seront utilisées pour initier les feux au sein d'une chambre de combustion, en condition parfaitement contrôlée. L'étude toxicologique portera sur l'analyse de marqueurs de la viabilité cellulaire, de la réponse inflammatoire, de l'expression génique des enzymes du métabolisme des xénobiotiques et du stress oxydant. Des suies seront également récoltées afin de réaliser une évaluation de la mesure du potentiel oxydant par des approches acellulaires. Ces résultats seront mis en relation avec les analyses chimiques et physiques des gaz et des particules effectuées en parallèle des expositions. Ce projet permettra de disposer d'un outil adapté à l'étude de la toxicité par inhalation des fumées d'incendie et pourra, à terme, être proposé pour l'étude de la toxicité de produits de décomposition liés à tous types d'incendie.

---

\*Intervenant

# Pyrotechnic smokes particles exposures induced oxidative stress in a 3D model of primary pulmonary epithelial cells

Violaine Martin De Lagarde \* <sup>1</sup>, Laurence Chevalier <sup>2</sup>, Marion Janona <sup>1</sup>,  
Cécile Corbière <sup>1</sup>, Christelle Monteil <sup>1</sup>

<sup>1</sup> ABTE ToxEMAC – Normandie Univ, UNIROUEN, UR ABTE, EA4651 ToxEMAC, Rouen, France – France

<sup>2</sup> Groupe de physique des matériaux – Centre National de la Recherche Scientifique : UMR6634, Institut national des sciences appliquées Rouen Normandie, Université de Rouen Normandie – France

Pyrotechnic smokes are widely used for military applications but occupational risks related to their exposure are poorly documented. The major issue arise from inhalation of particles after smoke combustion and particle deposition into the airways that could lead to toxic effects on the pulmonary cells.

In this study, we evaluated the toxicity of particles from a red signaling smoke (RSS) and an hexachloroethane-based obscuring smoke (HC-OS) by exposing a synthetic pseudo-stratified airway epithelium obtained with primary human pulmonary cells (NHBE) grown at the Air-Liquid-Interface to suspended particles.

After short-term exposure of 4h (6.25, 12.5, 25 and 50  $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ ) only RSS particles were able to generate ROS, in a dose dependant manner. After 24h of exposure, both particles did not affect cell viability (MTT assay, cell cycle analysis, intracellular ATP measurement) but RSS particles appeared to be more toxic than HC-OS particles. Indeed, RSS particles induced significant increased of mRNA expressions of antioxidant markers (SOD-1, SOD-2, HO-1 and NQO-1), increased protein expression of NQO-1 while HC-OS particles only increased NQO-1 gene expression. Additionally, 24h post-exposure of RSS particles, the induction of an antioxidant response was still maintained and internalization of particles in mucin secretory granules seeds as observed. In conclusion, we observed an induction of an oxidative stress mediated by smoke particles on a pulmonary model close to physiological conditions. Finally, our study point out the need to further characterize smoke particle toxicity in order to establish exposure guidelines in the scope of professional recurrent exposures.

**Mots-Clés:** smokes particles, Air, Liquid Interface, primary human pulmonary cells, oxidative stress

---

\*Intervenant

# Manganese-dependent effects of the fungicides maneb and mancozeb on cellular viability, lipid accumulation and drug metabolism in human hepatocytes

Kilian Petitjean \* <sup>1</sup>, Sébastien Bristeau <sup>2</sup>, Laurence Amalric <sup>2</sup>, Nicole Baran <sup>3</sup>, Bernard Fromenty <sup>4</sup>, Anne Corlu <sup>4</sup>, Pascal Loyer <sup>4</sup>

<sup>1</sup> Institut NuMeCan U1241 – Institut National de la Santé et de la Recherche Médicale - INSERM : U1241 – France

<sup>2</sup> Direction Eau, Environnement, Procédés et Analyses (DEPA) – BRGM, F-45060 Orléans, France – France

<sup>3</sup> Direction Eau, Environnement, Procédés et Analyses (DEPA) – BRGM, F-45060 Orléans, France – France

<sup>4</sup> Institut NuMeCan U1241 – Institut National de la Santé et de la Recherche Médicale - INSERM – France

The worldwide and intensive use of pesticides results in their dissemination in food as residues. Therefore, human exposure to these environmental contaminants is a major health issue. EFSA established for each pesticide an Acceptable Daily Intake (ADI), which is a theoretical safety threshold for human health. Nevertheless, ADI does not consider potential cumulative effects of pesticide cocktails. The aim of this study is to evaluate the effects of a low-dose pesticide mixture, frequently found in human food (chlorpyrifos, dimethoate, iprodione, imazalil, diazinon, maneb, mancozeb).

Using differentiated HepaRG cells, we unveiled a major cytotoxic effect of the cocktail following a single exposure at low concentrations extrapolated from the ADI. Moreover, we demonstrated that the toxicity of this cocktail is carried by dithiocarbamates (Mn-EBDC) maneb and mancozeb, which contain manganese. Acute exposure to the cocktail, Mn-EBDC or manganese chloride (MnCl<sub>2</sub>) triggered ROS overproduction, which led to cell death by intrinsic apoptosis. We also showed an intracellular/mitochondrial overload of manganese concomitantly with an intracellular decrease in zinc levels following a single exposure to maneb or MnCl<sub>2</sub>. Finally, a co-exposure with zinc chloride (MnCl<sub>2</sub>) partially restored manganese intracellular/mitochondrial levels which was sufficient to alleviate manganese overload-induced toxicity.

Finally, we also demonstrated that chronic exposure to the pesticide mixture, Mn-EBDC or MnCl<sub>2</sub> aggravated steatosis induced by oleic and stearic acids in HepaRG cells, possibly involving an inhibition of VLDL secretion. Importantly, we found that exposure to non-cytotoxic concentrations of pesticides or MnCl<sub>2</sub> ( $\leq$ ADI/10) strongly reduced the expression and enzymatic activities of both CYP2E1 and CYP3A4.

**Mots-Clés:** dithiocarbamates, manganese, chronic/acute exposure, hepatocytes, steatosis

---

\*Intervenant

# Impact des pesticides sur les événements biologiques impliqués dans le développement des hépatopathies métaboliques

Clémence Rives \* <sup>1</sup>, Valérie Alquier-Bacquie <sup>2</sup>, Emmanuelle Kesse-Guyot <sup>3</sup>, Alexandre Lucas <sup>4</sup>, Arnaud Polizzi <sup>5</sup>, Frédérique Lasserre <sup>6</sup>, Sandrine Ellero-Simatos <sup>7</sup>, Bruno Lamas <sup>8</sup>, Céline Martin <sup>9</sup>, Nicolas Loiseau <sup>10</sup>, Hervé Guillou <sup>11</sup>, Laurence Gamet-Payraastre <sup>12</sup>, Anne Fougerat <sup>13</sup>

- <sup>1</sup> Rives – INRAE, Université Paul Sabatier - Toulouse III, École Nationale Vétérinaire de Toulouse - ENVT, Institut National Polytechnique de Toulouse - INPT – France
- <sup>2</sup> Alquier-Bacquie – INRAE, Université Paul Sabatier - Toulouse III, École Nationale Vétérinaire de Toulouse - ENVT, Institut National Polytechnique de Toulouse - INPT – France
- <sup>3</sup> Kesse-Guyot – Institut National de la Santé et de la Recherche Médicale - INSERM, Conservatoire National des Arts et Métiers (CNAM), Université Paris-Nord - Paris XIII – France
- <sup>4</sup> Lucas – Institut National de la Santé et de la Recherche Médicale - INSERM, Université Paul Sabatier - Toulouse III – France
- <sup>5</sup> Polizzi – INRAE, Université Paul Sabatier - Toulouse III, École Nationale Vétérinaire de Toulouse - ENVT, Institut National Polytechnique de Toulouse - INPT – France
- <sup>6</sup> Lasserre – INRAE, Université Paul Sabatier - Toulouse III, École Nationale Vétérinaire de Toulouse - ENVT, Institut National Polytechnique de Toulouse - INPT – France
- <sup>7</sup> Ellero-Simatos – INRAE, Université Paul Sabatier - Toulouse III, École Nationale Vétérinaire de Toulouse - ENVT, Institut National Polytechnique de Toulouse - INPT – France
- <sup>8</sup> Lamas – INRAE, Université Paul Sabatier - Toulouse III, École Nationale Vétérinaire de Toulouse - ENVT, Institut National Polytechnique de Toulouse - INPT – France
- <sup>9</sup> Martin – INRAE, Université Paul Sabatier - Toulouse III, École Nationale Vétérinaire de Toulouse - ENVT, Institut National Polytechnique de Toulouse - INPT – France
- <sup>10</sup> Loiseau – INRAE, Université Paul Sabatier - Toulouse III, École Nationale Vétérinaire de Toulouse - ENVT, Institut National Polytechnique de Toulouse - INPT – France
- <sup>11</sup> Guillou – INRAE, Université Paul Sabatier - Toulouse III, École Nationale Vétérinaire de Toulouse - ENVT, Institut National Polytechnique de Toulouse - INPT – France
- <sup>12</sup> Gamet-Payraastre – INRAE, Université Paul Sabatier - Toulouse III, École Nationale Vétérinaire de Toulouse - ENVT, Institut National Polytechnique de Toulouse - INPT – France
- <sup>13</sup> Fougerat – INRAE, Université Paul Sabatier - Toulouse III, École Nationale Vétérinaire de Toulouse - ENVT, Institut National Polytechnique de Toulouse - INPT – France

L'obésité et les maladies chroniques associées (diabète de type 2 et hépatopathies métaboliques) constituent un enjeu majeur de santé publique. Ces pathologies ont des origines multifactorielles avec une composante génétique et un rôle du mode de vie. Par ailleurs, l'exposition à des contaminants environnementaux, dont les pesticides, favoriserait la progression de ces pathologies. L'objectif global de nos travaux est d'évaluer dans un modèle murin d'hépatopathie métabolique, l'impact d'une exposition alimentaire à un cocktail de pesticides à des doses non toxiques à long terme, couplée à une alimentation déséquilibrée, afin de mimer l'exposition des consommateurs. La première partie de ce projet consiste à sélectionner *in vitro* sur une lignée d'hépatocytes humains immortalisés (IHH), des pesticides impactant le métabolisme hépatique, en particulier le métabolisme lipidique et le stress oxydant. Nous avons utilisé les profils d'expositions aux pesticides de la cohorte Nutrinet santé et identifié 10 composés. Nos résultats montrent que

---

\*Intervenant

l'exposition des cellules IHH à certains de ces pesticides, modifie des événements clés impliqués dans la séquence biologique conduisant à la stéatose hépatique qui incluent : (i) les événements moléculaires initiateurs (activation des récepteurs nucléaires), (ii) les événements biologiques clés (expression des gènes impliqués dans le métabolisme lipidique et le stress oxydant, respiration mitochondriale), (iii) l'effet biologique (accumulation de lipides). En conclusion, cette étude a permis d'identifier 5 pesticides qui, individuellement, influencent le métabolisme hépatocytaire et qui seront évalués en cocktail *in vitro* puis *in vivo* chez la souris sur le développement de l'obésité, du diabète et de la stéatose.

**Mots-Clés:** Pesticides, Métabolisme lipidique, Stress oxydant, Respiration mitochondriale, Lignée d'hépatocytes humains immortalisés

# Hepoid : an advanced 3D human hepatocytes spheroid model relevant for acute and long-term toxicity analysis

Sophie Rose \* <sup>1</sup>, Frédéric Ezan , Jennifer Carteret , Marie Cuvellier ,  
Georges Baffet , Sophie Langouët

<sup>1</sup> Institut de recherche en santé, environnement et travail – Structure Fédérative de Recherche en Biologie et Santé de Rennes, Institut National de la Santé et de la Recherche Médicale : U1085, École des Hautes Études en Santé Publique [EHESP], Université de Rennes 1, Université d’Angers – France

The liver is essential in the elimination of environmental and food contaminants. Given the interspecies differences between rodents and humans, the development of relevant in vitro human models is crucial to investigate liver functions and toxicity in cells that better reflect pathophysiological processes. The in vitro gold standard model primary human hepatocytes suffer from a limited lifespan and lack of proliferation while the differentiation of the hepatic HepaRG cell line requires high concentration of dimethyl sulfoxide which restricts its usefulness for drug-metabolism studies.

We have developed a DMSO-free advanced 3D model named Hepoid, that allows concomitant proliferation and differentiation of human hepatocytes (primary and HepaRG cells) cultured in collagen matrix. Cells rapidly organize into characteristic polarized hollow spheroids of differentiated hepatocytes exhibiting high levels of liver-specific functions and xenobiotic metabolism enzymes expression and activities after a few days of culture and for at least 4 weeks. By studying the toxicity of 15 well-known injury-inducing drugs by treating cells with 1- to 100-fold of their plasmatic concentrations, we showed appropriate responses and demonstrate the sensitivity to drugs known to induce various degrees of liver injury. Our results also demonstrated that after long-term treatment, the model is well suited to estimate in human cholestatic and steatotic effects of drugs (Amiodarone, Chlorpromazine, Cyclosporine A and Bosentan).

Taken together, our results show that the Hepoid model as a promising tool for various toxicological in vitro assays, environmental chemicals risk assessment and biotechnological applications.

**Mots-Clés:** Hépatocytes humains, 3D culture model, Long, term differentiation, Human liver injury  
· Toxicity screening

---

\*Intervenant

# Impact of benzo[a]pyrene on microRNA profiles in human peripheral blood mononuclear cells and their discharged extracellular vesicles.

Rima Souki \* <sup>1</sup>, Jérémy Amossé <sup>1</sup>, Dominique Lagadic-Gossmann <sup>1</sup>, Eric Le Ferrec <sup>1</sup>, Lydie Sparfel <sup>1</sup>

<sup>1</sup> Institut de recherche en santé, environnement et travail – Structure Fédérative de Recherche en Biologie et Santé de Rennes, Institut National de la Santé et de la Recherche Médicale : U1085, École des Hautes Études en Santé Publique [EHESP], Université de Rennes 1, Université d'Angers – France

Polycyclic Aromatic Hydrocarbons (PAHs) are widespread environmental pollutants known for their adverse toxic effects on human health. Human exposure to PAHs is not only of occupational origin (mechanics, workers in electrode production) but also of domestic origin, via pollution or food, representing 70% of human exposure for non-smokers. Among PAHs, benzo[a]pyrene (B[a]P) is classified carcinogenic to humans. So, biological monitoring of B[a]P exposure using robust biomarkers appears crucial. In this context, circulating human immune cells, such as the peripheral blood mononuclear cells (PBMC) seem suitable for this assessment. Indeed, they are present at PAH exposure routes and constitute a major cell type targeted by these contaminants as reported by our previous works. Recently, microRNAs have been suggested to represent emerging biomarkers for exposure to environmental pollutants especially because they can be reliably detectable and highly prevalent in body fluids notably in extracellular vesicles (EVs). MicroRNAs are small non-coding RNA and post-transcriptional key regulators controlling thus many biological processes. The present study aims to identify miRNA signatures produced in PBMC and EVs isolated from these cells using large-scale small RNA sequencing. Our data showed that the B[a]P at 2 $\mu$ M for 48h highlights a distinct profile of expression between PBMC and their secreted EVs. We are also interested in validating a panel of microRNAs in vivo in plasma of B[a]P-exposed rats and subjects occupationally exposed to PAHs. These results will allow us to identify some of the microRNAs as biomarkers of exposure and effect, potentially interesting in molecular epidemiology.

**Mots-Clés:** benzo[a]pyrene, biomarkers, microRNAs

---

\*Intervenant

# Systemes in vitro d'évaluation des risques liés à l'exposition à des substances chimiques (nanomatériaux)

Anaëlle Torres \* <sup>1</sup>, Jacques-Aurélien Sergent <sup>2</sup>, Thierry Rabilloud <sup>3</sup>

<sup>1</sup> Solvay - CEA - CNRS – Solvay (France) : GBUSilica, CNRS : UMR5249, Commissariat à l'Énergie Atomique et aux Énergies Alternatives (CEA) - Grenoble : IRIG/DIESE/LCBM/ProMIT – France

<sup>2</sup> Solvay - TERA – Belgique

<sup>3</sup> CNRS – CNRS : UMR5249 – France

En Europe, la mise sur le marché de substances chimiques est soumise à la réglementation REACH. Elle a pour objectif de favoriser les formulations chimiques les moins impactantes pour l'environnement, et impose d'identifier et de tester les risques liés à l'exposition et l'utilisation de ces substances. Même si ces tests réglementaires sont réalisés sur l'animal, REACH encourage à réduire l'expérimentation animale notamment pour les tests préliminaires afin de respecter la politique des 3R (Remplacer, Réduire, Raffiner). Dans ce contexte, Solvay souhaite diminuer son impact environnemental en développant une chimie verte. C'est pourquoi, dans le but d'acquérir des données pré-réglementaires, nous avons combiné des expériences de biologie cellulaire avec des expériences d'immunotoxicité. De plus, les études classiques de toxicité en exposition aiguë représentent seulement les effets d'une exposition accidentelle à une forte dose de substance chimique. Ce mode d'exposition ne permet pas d'obtenir des résultats sur tous les paramètres importants en toxicologie. Nous avons développé des systèmes *in vitro* utilisant des lignées cellulaires de macrophages murins permettant d'étudier deux paramètres clés d'une exposition à des substances chimiques : le débit de dose et la persistance des effets biologiques. Les paramètres testés sont nombreux, et permettent de contrôler les fonctions des macrophages : la cytotoxicité, la phagocytose, le stress oxydant, les marqueurs de surface, le tout en s'appuyant sur des analyses de protéomiques

**Mots-Clés:** macrophages, protocoles d'exposition, Silices amorphes de synthèse, toxicité

---

\*Intervenant



# ENVIRONMENTAL FACTORS INVOLVED IN PARKINSON'S DISEASE: AIR POLLUTION-DERIVED ULTRAFINE PARTICLES INDUCE FERROPTOSIS IN DIFFERENTIATED HUMAN DOPAMINERGIC NEURONAL LUHMES CELLS

Emma Theerens \* <sup>1,2</sup>, Ophélie Simonin <sup>1</sup>, Hind Bouchaoui <sup>1,2</sup>, Aurélie Jonneaux <sup>2</sup>, Flore Gouel <sup>2</sup>, Laura Mahoney <sup>2</sup>, Jean-Marc Lo Guidice <sup>1</sup>, David Devos <sup>2</sup>, Anne-Sophie Rolland <sup>2</sup>, Guillaume Garçon <sup>1</sup>

<sup>1</sup> CHU Lille, Institut Pasteur de Lille, ULR 4483-IMPacts de l'Environnement Chimique sur la Santé (IMPECS) – Université de Lille, Droit et Santé – France

<sup>2</sup> Inserm, CHU Lille, UMR-S-U1172, LilNCog (JPARC), Lille Neurosciences Cognition – Université de Lille, Droit et Santé – France

Only 5% of Parkinson's disease (PD) risk may be dedicated to genetic variations, meaning that many of cases are sporadic in nature. Several key environmental causes have been demonstrated yet but air pollution-derived ultrafine particles (UFP) remained less studied. In this study, we assessed whether UFP could not only stimulate neuronal cell death but also contribute to PD phenotype in differentiated LUHMES cells. Ferroptosis, a distinct form of programmed cell death mainly caused by excessive iron-dependent lipid peroxidation, was also studied together with protection by some potent ferroptosis inhibitors. The acquired phenotype was thereafter compared to a standard *in vitro* PD model, i.e., 1-methyl-4-phenylpyridinium (MPP<sup>+</sup>) inducer. Taken together, results indicated that cells died after UFP exposure with a corresponding LD10 of 10  $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ . There were significant increases of 4-hydroxynonenal (HNE)-BSA adducts, as detected by a MSD electrochemiluminescence assay, and glutathione oxidation after exposure to UFP, thereby reflecting a high level of reactive oxygen species (ROS) production and lipid peroxidation. Even more, there was no significant change of glutathione peroxidase (GPx) activity, probably due to its partial inactivation by ROS. Moreover, liproxstatin-1 (LPX) and deferiprone (DFP) preventing lipid peroxidation and cell death after UFP exposure reinforced the fact that these cells mostly died by ferroptosis. To conclude, these results showed that differentiated LUHMES cells exposed to UFP died mostly by ferroptosis. Interestingly MPP<sup>+</sup>- and UFP exposures both led to the same results, supporting the conclusion that UFP could contribute to the development of a PD phenotype in differentiated LHUMES cells.

**Mots-Clés:** Air pollution, derived ultrafine particles, 1, methyl, 4, phenylpyridinium, differentiated LHUMES cells, Parkinson's disease, Ferroptosis.

---

\*Intervenant

# Deregulation of liver lipid metabolism in Hepoid-HepaRG by endocrine disruptors

Charbel Touma <sup>\*</sup> <sup>1</sup>, Kevin Bernal <sup>2</sup>, Sophie Rose <sup>\*</sup>

<sup>1</sup>, Frédéric Ezan <sup>1</sup>, Corinne Martin-Chouly <sup>1</sup>, Dominique Lagadic <sup>1</sup>, Étienne Blanc <sup>2</sup>, Sophie Langouët <sup>1</sup>

<sup>1</sup> Irset – Univ Rennes, Inserm, EHESP, Irset (Institut de Recherche en Santé, Environnement et Travail)-UMR S 1085, F-35042 Rennes cedex, France – France

<sup>2</sup> T3S – Inserm UMR S-1124, Université de Paris, 75006 Paris, France – France

In recent years, metabolic diseases caused by endocrine disruptors (EDCs) have emerged. There is an urgent need to decipher and understand the underlying mechanisms of action by which these EDCs are responsible for promoting metabolic disorders in humans, including steatohepatitis, non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD), and obesity. Using a highly differentiated 3D human hepatocyte spheroid model, called Hepoid®-HepaRG, we focused on studying the deregulation of lipid metabolism. We first evaluated the cytotoxicity of 10 selected EDCs, either in 2D or 3D culture, suspected of having obesogenic properties and belonging to several chemical families: Bisphenols, Phthalates, Parabens, PFAS, Organochlorides, and Cadmium, with a wide range of concentrations and treatment times. We observed a minor decrease in ATP levels independent of concentration and treatment time, except for cadmium where significant cytotoxicity was observed.

Furthermore, our results showed that some genes involved in lipid (APOA4, APOL1, SREBP, FABP) xenobiotic (CYP1A2, 3A4, 2E1) and carbohydrate (PKLR, G6Pc) metabolism were altered by the contaminants, especially with DDE, BPA, and PFOA. Quantification of lipid droplets revealed an increase in lipid content in Hepoid®-HepaRG, particularly after long-term treatment with BPA, DEHP, DDE, and PFOA; results that were correlated with triglyceride content. Investigating the effects of EDCs on energetic mechanisms, we demonstrated that  $\beta$ -fatty acid oxidation was decreased after treatment of 3D hepatocytes with BPA and DEHP.

Taken together, these results demonstrate the relevance of the study model and will provide more specific information on the effects of EDCs on lipid metabolism in the human liver.

**Mots-Clés:** Hepoid HepaRG, endocrine disruptors, liver, Lipid metabolism

---

\*Intervenant

# Comparaison de la toxicité et des effets transcriptomiques des émissions de tabac chauffé, de cigarette électronique et de cigarette sur des cellules épithéliales bronchiques humaines

Gianni Zarcone \* <sup>1</sup>, Marie Lenski <sup>1</sup>, Thomas Martinez <sup>1</sup>, Guillaume Garçon <sup>1</sup>, Delphine Allorge <sup>1</sup>, Fabrice Nesslany <sup>1</sup>, Jean-Marc Lo Guidice <sup>1</sup>, Anne Platel <sup>1</sup>, Sébastien Anthérieu <sup>1</sup>

<sup>1</sup> ULR 4483, IMPECS - IMPact de l'Environnement Chimique sur la Santé humaine – Université de Lille, CHU Lille, Institut Pasteur de Lille – France

La cigarette électronique (e-cigarette) et plus récemment le tabac chauffé ont rapidement gagné en popularité, avant même qu'il n'y ait suffisamment de preuves scientifiques sur leur innocuité pour les utilisateurs. C'est dans ce contexte que la toxicité des émissions de tabac chauffé et d'e-cigarette a été comparée à celle de la cigarette conventionnelle sur des cellules épithéliales bronchiques humaines (lignée BEAS-2B) cultivées à l'interface air-liquide.

Un test ATP et un test des comètes ont montré respectivement que les émissions de tabac chauffé provoquaient une cytotoxicité et des cassures d'ADN moindres par rapport à la fumée de cigarette, mais plus élevées que les aérosols d'e-cigarette. Une augmentation des aberrations chromosomiques n'a été mesurée par le test du micronoyau qu'après une exposition à la cigarette. Une analyse transcriptomique pangénomique a mis en évidence des dérégulations moins importantes avec l'e-cigarette qu'avec les produits du tabac. L'analyse fonctionnelle des transcrits dérégulés a montré qu'ils étaient impliqués dans des voies de signalisation communes pour les produits du tabac : augmentation du stress oxydant, de la prolifération et de la survie cellulaires, de la glycolyse et de la biosynthèse du cholestérol. Ainsi, le tabac chauffé a le potentiel de déréguler ces voies de signalisation d'une manière similaire à celle de la fumée de cigarette, mais seulement après une exposition plus intensive (120 bouffées vs 4 bouffées).

En conclusion, ces résultats démontrent que le tabac chauffé est moins toxique que la cigarette conventionnelle dans la lignée BEAS-2B mais plus toxique que l'e-cigarette.

Contrat noINCa\_13648, noINCa-IReSP\_15748

**Mots-Clés:** Tabac chauffé, Cigarette électronique, Génotoxicité, Transcriptomique

---

\*Intervenant

# Potentiel stéatogène et perturbations métaboliques liées aux contaminants environnementaux de type pesticide et alkylsperfluorés

Yannick Dauwe \* <sup>1</sup>

<sup>1</sup> Exposition, Perturbation Endocrino-métabolique et Reproduction – toxalim : GayrardV. – France

Les contaminant environnementaux sont suspectés de contribuer à l'incidence accrue de la stéatose hépatique non alcoolique. Parmi les stéatogènes figurent des pesticides et des composés alkylperfluorés. Ces composés sont connus pour interagir avec des récepteurs nucléaires tels que CAR et PXR dont l'activation induit une perturbation métabolique qui peut contribuer à la stéatogénèse. L'objectif du projet est d'analyser le rôle de l'activation des récepteurs nucléaires CAR et PXR dans les altérations métaboliques et l'induction de stéatoses hépatiques par une exposition chronique à faibles doses à un cocktail de contaminants. Pour cela, le potentiel stéatogène de pesticides et de composés alkylperfluorés, ligands de CAR et PXR, sera évalué chez la souris sauvage et invalidée pour les gènes CAR et PXR. Suite à leur administration seul et en mélange, à différents niveaux de doses, cette approche permettra d'identifier les mécanismes potentiels d'amplification des effets métaboliques des contaminants en mélange. L'effet d'un mélange pourrait mettre en jeu des interactions toxicodynamiques en lien avec la capacité de la poche de ligand de PXR à fixer plusieurs ligands simultanément et induire une activation synergique ou une simple additivité des potentiels activateurs de récepteurs nucléaires. L'activation des récepteurs nucléaires pourrait également être à l'origine d'interactions toxicocinétiques au travers de la régulation de l'expression des enzymes du métabolisme et transport des substances endogènes et exogènes. La compréhension de l'impact métabolique de contaminants en mélange à faible dose ouvre de nombreuses perspectives pour faire progresser l'évaluation du risque et la remédiation dans le cadre de la toxicologie alimentaire.

**Mots-Clés:** stéatose métabolisme récepteurs nucléaires perfluorés pesticides

---

\*Intervenant

# Caractérisation, compréhension et modélisation de la toxicité des mélanges de BTEX

Nour Jaber \* <sup>1</sup>, Claude Emond <sup>2</sup>, Fabrice Bray <sup>3</sup>, Paul Genevray <sup>4</sup>,  
Christian Rolando <sup>3</sup>, Fabrice Cazier <sup>4</sup>, Sylvain Billet \*

1

<sup>1</sup> Unité de Chimie Environnementale et Interactions sur le Vivant, SFR Condorcet FR CNRS 3417, Université du Littoral Côte d'Opale, Dunkerque – UR4492 – France

<sup>2</sup> PKSH Inc, Département de Santé Environnementale et Santé au Travail de l'École de santé publique, Université de Montréal – Canada

<sup>3</sup> Univ. Lille, CNRS, UAR 3290, MSAP, Miniaturisation pour la Synthèse l'Analyse et la Protéomique, F-59 000, Lille – UAR 3290 – France

<sup>4</sup> CCM, Centre Commun de mesure, Université du Littoral Côte d'Opale, Dunkerque – UR4492 – France

Le benzène, le toluène, l'éthylbenzène et les xylènes constituent un mélange ubiquitaire, généralement dénommé BTEX, connu pour ses effets néfastes sur la santé, parmi lesquels on peut citer des cancers et des atteintes des systèmes nerveux et respiratoires. Alors que l'exposition réelle à ces composés est le plus souvent multiple, très peu d'études expérimentales se sont intéressées à la nocivité du mélange quaternaire. Il en résulte des données incomplètes, notamment en termes de contribution de chaque composé à la toxicité globale. Mon projet de thèse vise à apporter des éléments de compréhension de la toxicité pulmonaire des BTEX seuls et en mélange en déterminant par des approches globales les mécanismes d'action impliqués. Tout d'abord, une modélisation *in silico* pharmacocinétique à base physiologique (PBPK) a permis de prédire les doses pulmonaires de BTEX seuls ou en mélange correspondant à des niveaux réalistes d'exposition humaine à la fois en milieu professionnel et en environnement général, afin de déterminer les conditions d'exposition (durée et concentration) à utiliser. Un modèle de culture organotypique d'épithélium respiratoire humain sera ensuite exposé en interface air/liquide de manière aiguë et répétée aux BTEX considérés individuellement et en mélange quaternaire. Les mécanismes de toxicité seront décrits via des marqueurs phénotypiques et des analyses transcriptomiques et protéomiques. Il s'agira ensuite de déterminer les événements initiateurs et clés permettant de compléter les chemins biologiques induits par l'exposition aux BTEX afin de contribuer à des modèles de type adverse outcome pathway (AOP) existants ou d'en initier de nouveaux.

**Mots-Clés:** Mélange, culture organotypique, exposition en interface air, liquide, BTEX, expositions répétées, PBPK, AOP.

---

\*Intervenant

# Liste des auteurs

Achard, Sophie, 11  
Al Awabdh, Sana, 19  
Al Zallouha, Margueritta, 11  
Alleman, Laurent, 16  
ALLEMAN, Laurent Y, 3  
ALLORGE, Delphine, 31  
Alquier-Bacquie, Valérie, 24  
Amalric, Laurence, 23  
Amossé, Jérémy, 2, 27  
André, Véronique, 12  
Anthérieu, Sébastien, 3, 16, 31

Baffet, Georges, 26  
Baran, Nicole, 23  
BARBIER, Emeline, 3  
Barthel, Hélène, 4  
Baudouin, Christophe, 5  
Bernal, Kevin, 30  
Bescher, Maelle, 18  
Billet, Sylvain, 33  
Biola-Vidamment, Armelle, 15  
Blanc, Étienne, 30  
Bonneau, Noémie, 5  
Bouchaoui, Hind, 29  
Boutamba-Mbina, Albana, 7  
BRAY, Fabrice, 33  
Brignole-Baudouin, Françoise, 5  
Bristeau, Sébastien, 23  
Bronsard, Julie, 17  
Brun, Emilie, 15

CARPENTIER, Jessica, 3  
Carteret, Jennifer, 26  
Cazier, Fabrice, 11, 33  
Chauvet, Caroline, 19  
Chevalier, Laurence, 22  
Clement, Bruno, 17  
Cochard, Margaux, 8  
Corbière, Cécile, 22  
Corlu, Anne, 23  
Coumoul, Xavier, 19  
Courcot, Dominique, 8, 11  
Cuvellier, Marie, 26

DALMASSO, Jessica, 9

Darne, Christian, 4  
dauwe, yannick, 32  
Delaporte, Flavien, 10  
Demeilliers, Christine, 13  
Desaulle, Dorota, 11  
Despréaux, Philomène, 11  
Devos, David, 29  
Dutot, Mélody, 14

El Hajjar, Carine, 12  
El Hajjar, Maguy, 13  
Ellero-Simatos, Sandrine, 24  
Emond, Claude, 33  
Ezan, Frédéric, 26, 30

Ferard, Céline, 15  
Ferron, Pierre-Jean, 17  
Fougerat, Anne, 24  
Fouyet, Sophie, 14  
Fromenty, Bernard, 17, 23

Gamet-Payrastre, Laurence, 24  
GARCON, Guillaume, 3  
Garçon, Guillaume, 16, 29, 31  
Gaté, Laurent, 4  
Genevray, Paul, 33  
Gicquel, Thomas, 17  
GIL, Sophie, 9  
Gonzalez, Bruno, 9  
Gosset, Pierre, 3  
Gouel, Flore, 29  
Grare, Céline, 3  
Guibourdenche, Jean, 9  
Guillet, Eléonore, 15  
Guillou, Hervé, 24

jaber, Nour, 33  
Jacob, Florence, 16  
Janona, Marion, 22  
Jeanton, Capucine, 11  
Jonneaux, Aurélie, 29

Kesse-Guyot, Emmanuelle, 24

Lagadic, Dominique, 30

Lagadic-Gossmann, Dominique, 18, 27  
 Lagarce, Frédéric, 10  
 Lamas, Bruno, 24  
 Landkocz, Yann, 8  
 Langouët, Sophie, 26, 30  
 Lasserre, Frédérique, 24  
 LE DARE, Brendan, 17  
 Le Ferrec, Eric, 27  
 LE MENTEC, Hélène, 18  
 Ledoux, Frédéric, 8  
 Legrand, Antoine, 18  
 Legrand, François-Xavier, 15  
 Lenski, Marie, 31  
 Leproux, Pascale, 14  
 LO GUIDICE, Jean-Marc, 3, 16, 29, 31  
 Loiseau, Nicolas, 24  
 Lopez Suarez, Lorena, 19  
 Loyer, Pascal, 23  
 Lteif, Maria, 20  
 Lucas, Alexandre, 24  
  
 Mahoney, Laura, 29  
 Maitre, Anne, 13  
 Marques, Marie, 13  
 Martin de Lagarde, Violaine, 22  
 Martin, Céline, 24  
 Martin-Chouly, Corinne, 30  
 Martinez, Thomas, 31  
 MEAUSOONE, Clémence, 21  
 Momas, Isabelle, 11  
 Monniez, Emmanuelle, 18  
 Monteil, Christelle, 22  
 Morel, Isabelle, 17  
  
 Nabhan, Myriam, 20  
 Nessler, Fabrice, 31  
  
 Olivier, Elodie, 14  
  
 Pallardy, Marc, 15, 20  
 Pelletier, Romain, 17  
 PERDRIX, Esperanza, 3  
 Perdrix, Esperanza, 16  
 Persoons, Renaud, 13  
 Petitjean, Kilian, 23  
 Peyrin, Jean-Michel, 5  
 Platel, Anne, 31  
 Podechard, Normand, 18  
 Polizzi, Arnaud, 24  
 Potey, Anaïs, 5  
 Pottier, Ivannah, 12  
  
 RABILLOUD, Thierry, 28  
  
 Rat, Patrice, 14  
 Reizine, Florian, 17  
 Rives, Clémence, 24  
 Roger, Emilie, 10  
 Rogez-Florent, Tiphaine, 12  
 Rolando, Christian, 33  
 Rolland, Anne-Sophie, 29  
 Rose, Sophie, 26, 30  
 Réaux-Le Goazigo, Annabelle, 5  
  
 Savary, Camille, 10  
 SEIDEL, Carole, 4  
 SERGENT, Jacques-Aurélien, 28  
 Simonin, Ophélie, 3, 29  
 smadja, claire, 20  
 Souki, Rima, 27  
 Sparfel, Lydie, 27  
 Szely, Natacha, 15  
 Séguin, Virginie, 12  
  
 Tardif, Cecile, 20  
 Tarte, Karin, 17  
 Theerens, Emma, 29  
 Tomas, Alexandre, 16  
 TORRES, Anaëlle, 28  
 Touma, Charbel, 30  
 Turbica, Isabelle, 20  
  
 Verdin, Anthony, 11  
 Visvikis, Athanase, 4  
  
 ZARCONE, GIANNI, 31