



**IRSN**

INSTITUT  
DE RADIOPROTECTION  
ET DE SÛRETÉ NUCLÉAIRE

# Effets du tritium *in vivo* et *in situ* sur la santé des poissons : approche multi biomarqueurs et liens entre les échelles biologiques

## IRSN

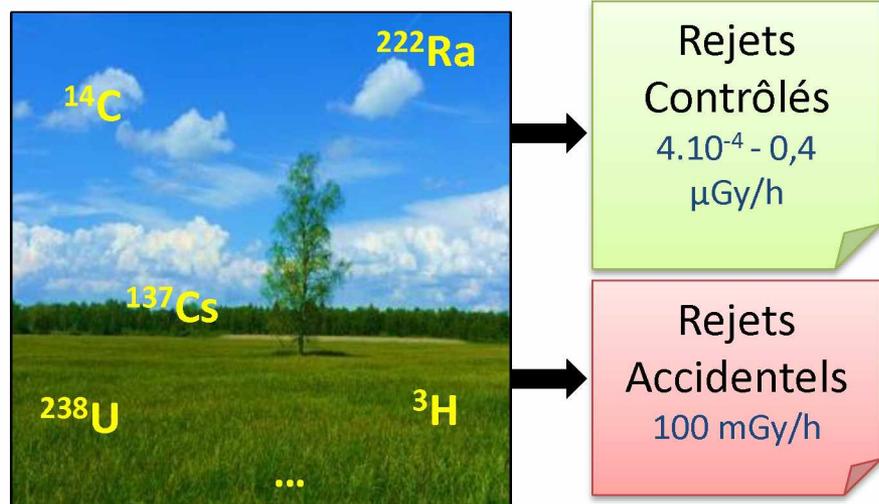
Christelle Adam-Guillermin, Caroline Arcanjo, Virginie Camilleri, Isabelle Cavalié, Magali Floriani, Béatrice Gagnaire, Olivier Simon

## CNL

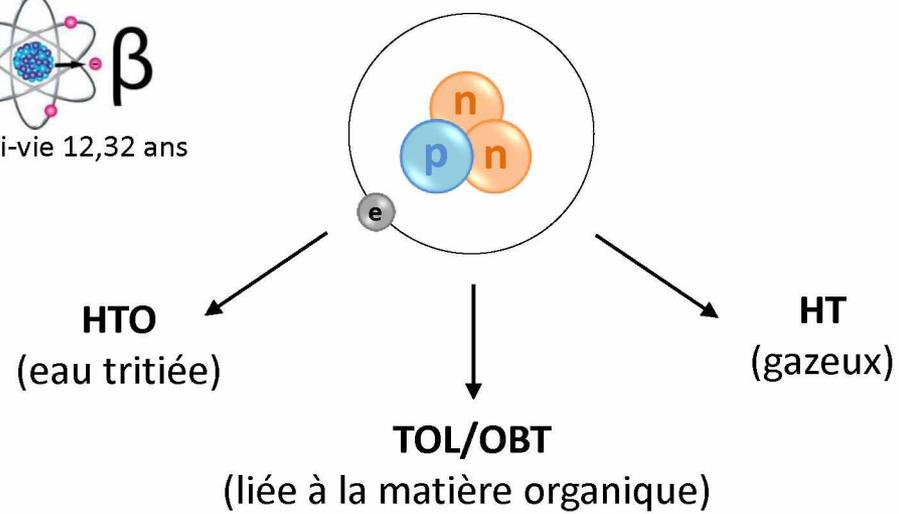
Amy Festarini, Marilynne Stuart

# Introduction – les radionucléides dans l'environnement

- Sources naturelles cosmogéniques
- Sources artificielles



**Tritium** : isotope radioactif de l'hydrogène



# Introduction – les rejets de tritium dans l'environnement

Stock naturel  $^3\text{H} \approx 3,5 \text{ kg}$



## Essais nucléaires atmosphériques (1945-1963)



- ▶ 560 kg de  $^3\text{H}$  rejetés
- ▶ Activité dans l'eau de pluie

- Avant  $\approx 0,6 \text{ Bq/L}$
- 1963  $\approx 150 \text{ Bq/L}$
- Après  $\approx 1 \text{ Bq/L}$

## CNPEs et usines de retraitement du combustible

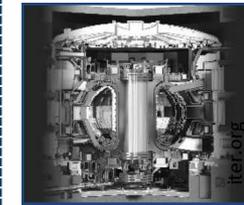


- ▶ CNPE : 2,8 g de  $^3\text{H}$  (rejets liquides) :
- activité normale  $6.10^5 - 4.10^6 \text{ Bq/L}$
- écosystèmes aquatiques 50 Bq/L



- ▶ La Hague :
- $10^8 \text{ Bq/L}$  en activité normale
- $\approx 30 \text{ g/ an}$

## Projets de recherche sur la fusion thermonucléaire



- ▶ ex. ITER
- qq grammes de  $^3\text{H}$

PASSE

PRESENT

FUTUR

## + Sources industrielles et petits utilisateurs

- ▶ Utilisation médicale : molécules ciblées
- ▶ Expériences scientifiques
- ▶ Objets luminescents : propriétés lumineuses du  $^3\text{H}$



# Introduction – effets du tritium sur les organismes aquatiques

- Débits de doses : de  $10^{-6}$  à  $9.10^2$  mGy/h

Effets observés **en-dessous**

- de la valeur de protection des écosystèmes de  $10 \mu\text{Gy/h}$
- du bruit de fond naturel de  $0,4 \mu\text{Gy/h}$

- Paramètres mesurés :

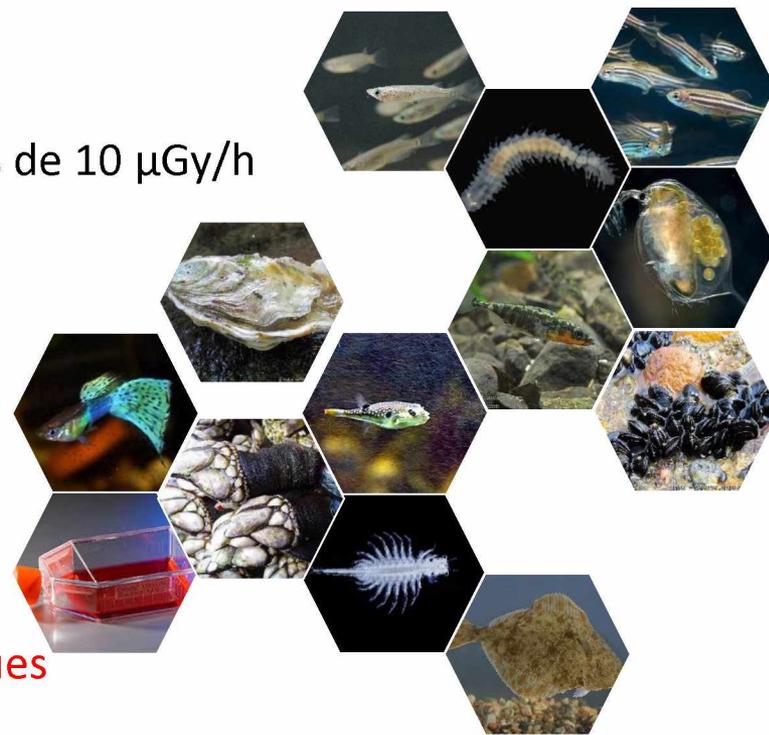
- **Reproduction et développement**
- **Quelques** études montrant des effets **génomotoxiques**
- **Peu** d'études au **niveau moléculaire**

Manque de connaissances sur les effets du  $^3\text{H}$

- peu d'espèces et de stades de vie étudiés
- Incertitudes sur les débits de dose



Besoin de mieux caractériser les **effets** du  $^3\text{H}$  et la **dose** pour une meilleure estimation du risque environnemental



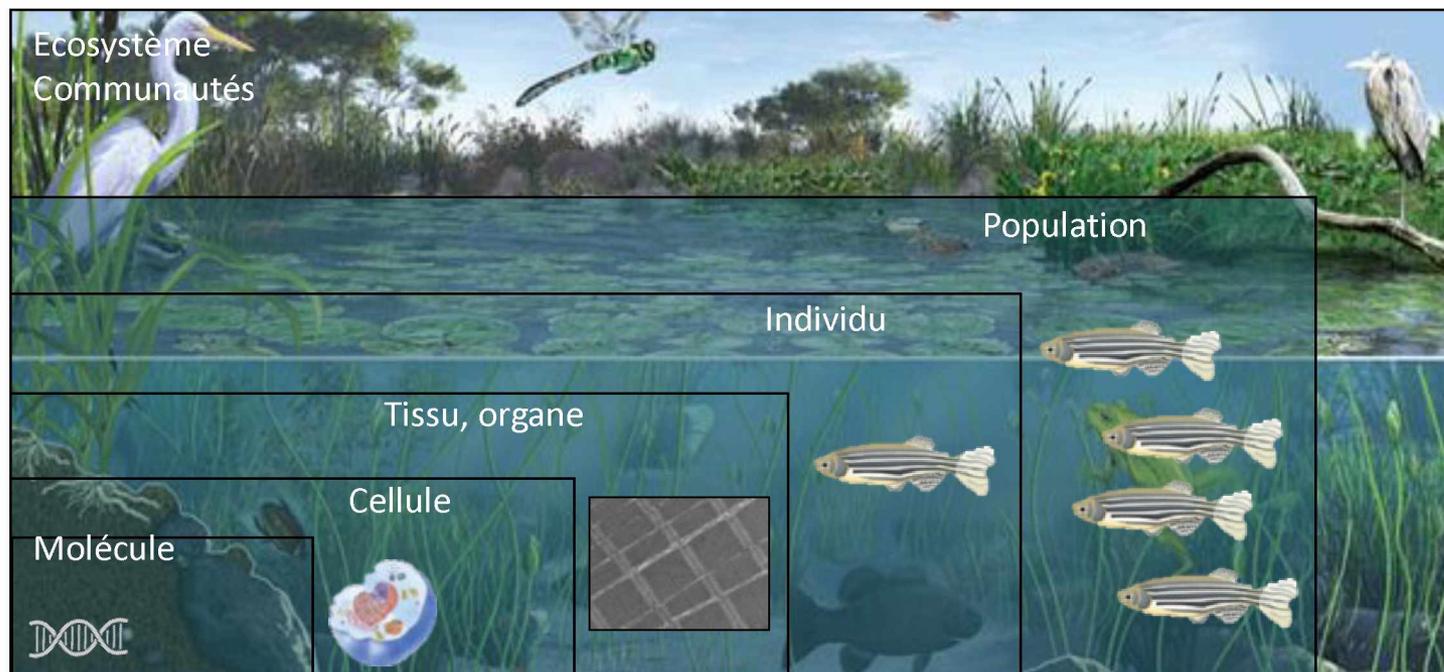
ICRP 2012; Garnier-Laplace et al 2011; ASN 2010;  
Ichikawa & Suyama 1974; Higuchi et al 1980; Adam-Guillermin et al 2012



## Objectif

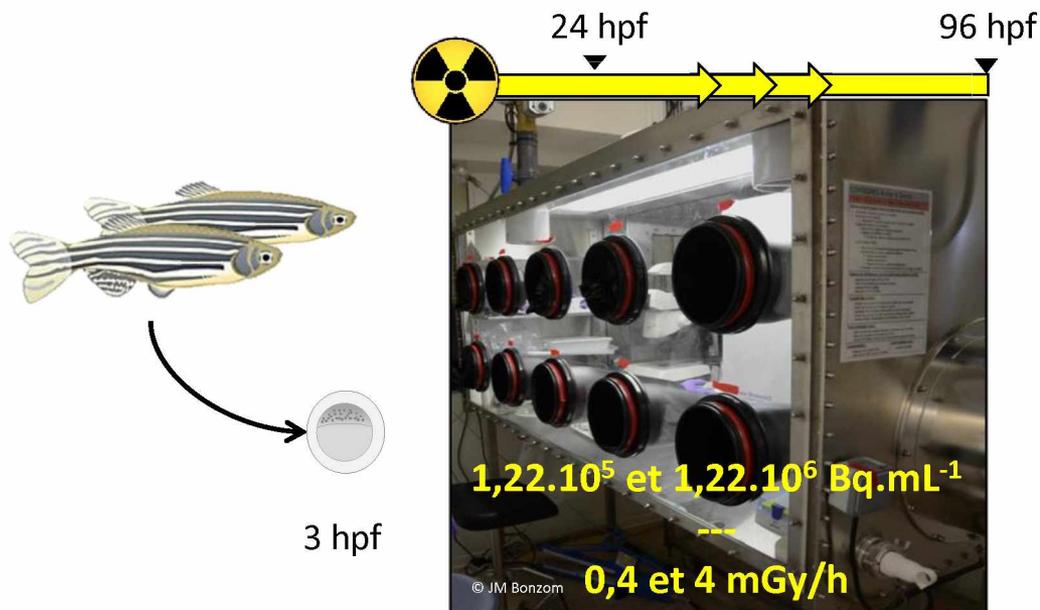
Evaluer les modes d'action toxiques de l'exposition à de l'eau tritiée (HTO) sur le poisson zèbre et le tête de boule à différentes échelles

Pertinence  
écologique



Précocité  
de la  
réponse

# Exposition de *Danio rerio* au tritium (HTO)



Analyse du transcriptome



Dommages ADN/Réparation

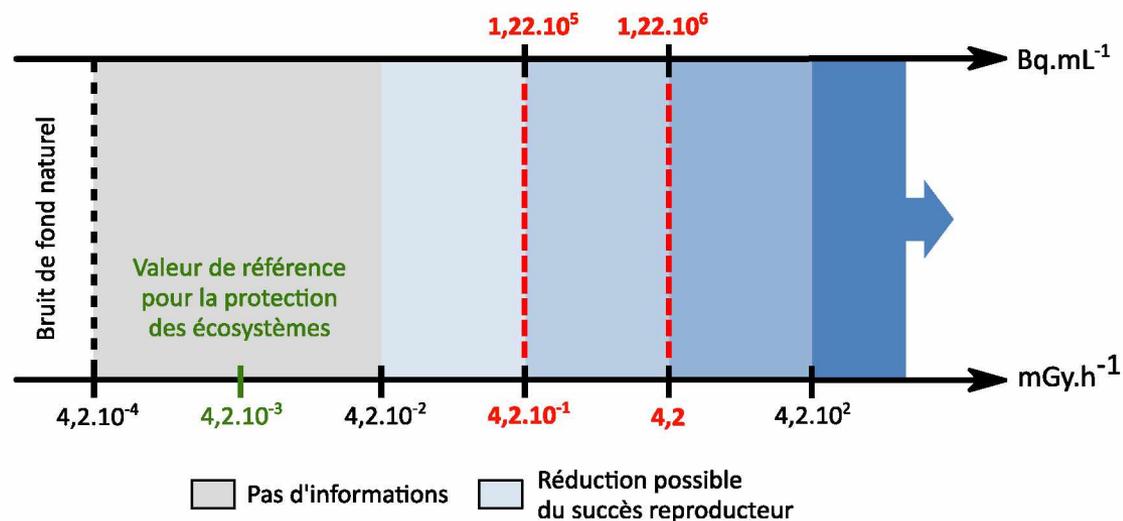


Ultra-structure musculaire



Ecllosion - morphométrie  
Comportement

Choix des débits de dose :



Quelques effets délétères chez les jeunes poissons

Potentielle augmentation de la morbidité

Mortalité chez les embryons dépendante du stade embryonnaire

# Résultats : réparation / dommages à l'ADN



Analyse sans *a priori* : mRNAseq

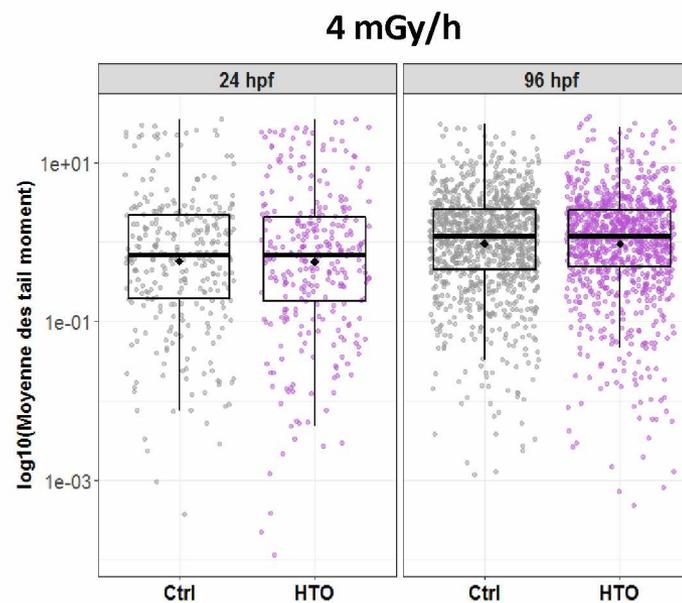
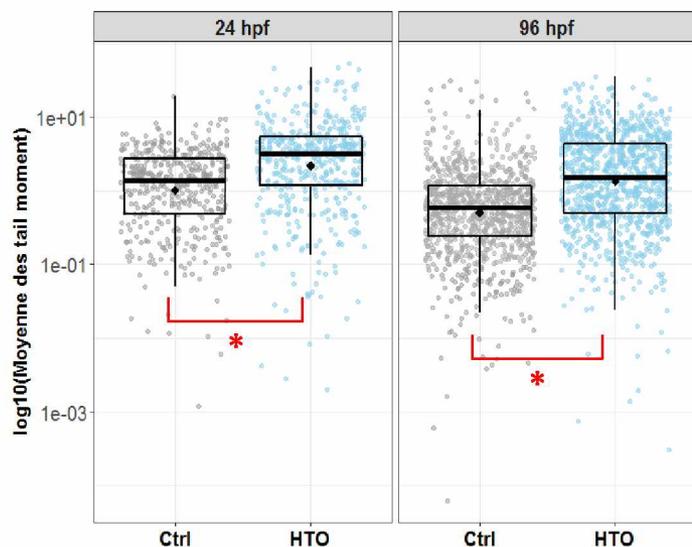
Gènes de réparation de l'ADN et processus apoptotiques sur-exprimés surtout à 4 mGy/h



Mise en place de processus de défense précoces à 4 mGy/h



Dommages à l'ADN : test des comètes  
0,4 mGy/h



Réparation des dommages : foyer  $\gamma$ -H2AX : + d'activité à 4 mGy/h



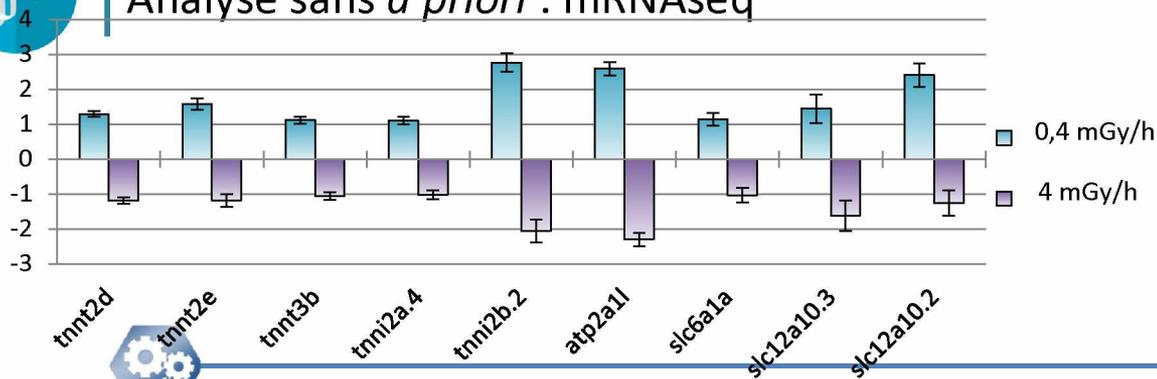
Cohérent avec les données moléculaires

Arcanjo et al., 2018

# Résultats : contraction musculaire



## Analyse sans *a priori* : mRNAseq

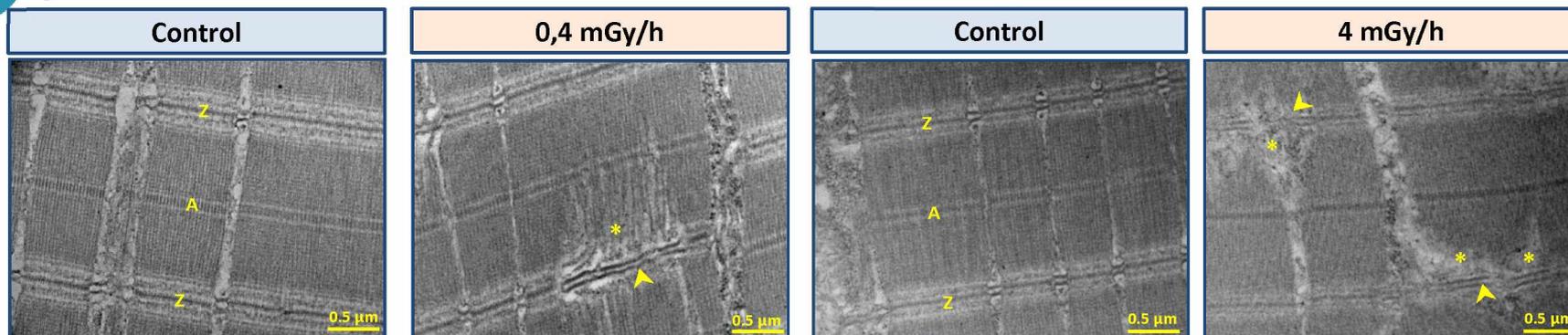
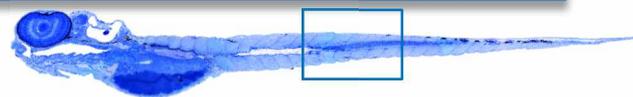


## Fonctions :

- Organisation des sarcomères
- Contraction musculaire
- Transport des ions

Effets HTO sur les processus menant à la contraction musculaire et l'organisation des fibres musculaires ?

## Ultra-structure musculaire (MET)

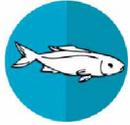


- Effets sur l'organisation des sarcomères : détachement des filaments

Cohérent avec les données moléculaires

Arcanjo et al., 2018

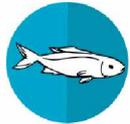
# Résultats : comportement



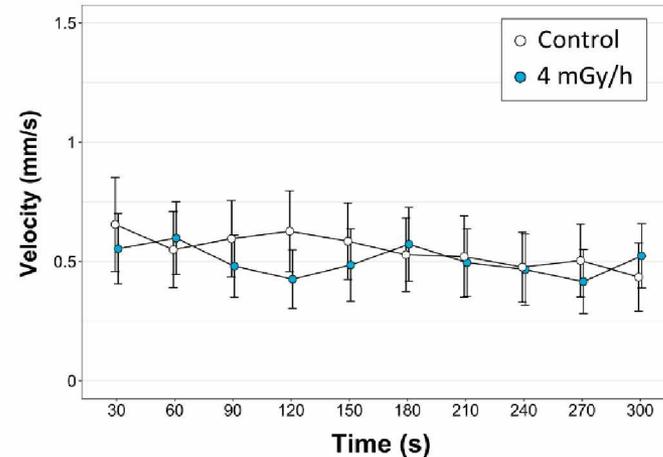
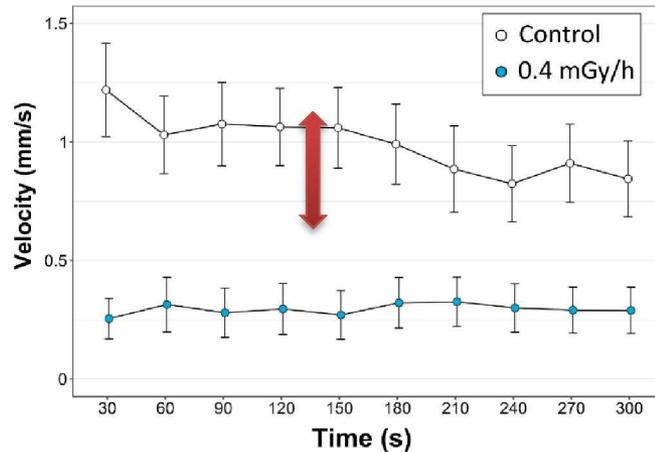
Mortalité/ éclosion : **pas d'effets significatifs**

Morphométrie : **effets transitoires** sur les paramètres mesurés

Activité (24 hpf), cardiologie (24-48 hpf) : pas d'effet



Comportement de nage



Ctrl N=48  
HTO N=48

➔ **Diminution significative** de la vitesse de nage à 0,4 mGy/h



**Effets HTO sur le comportement de nage**

**Cohérent avec les données moléculaires**

**Liens entre les différentes échelles biologiques**

# Tritium : expérience *in situ*

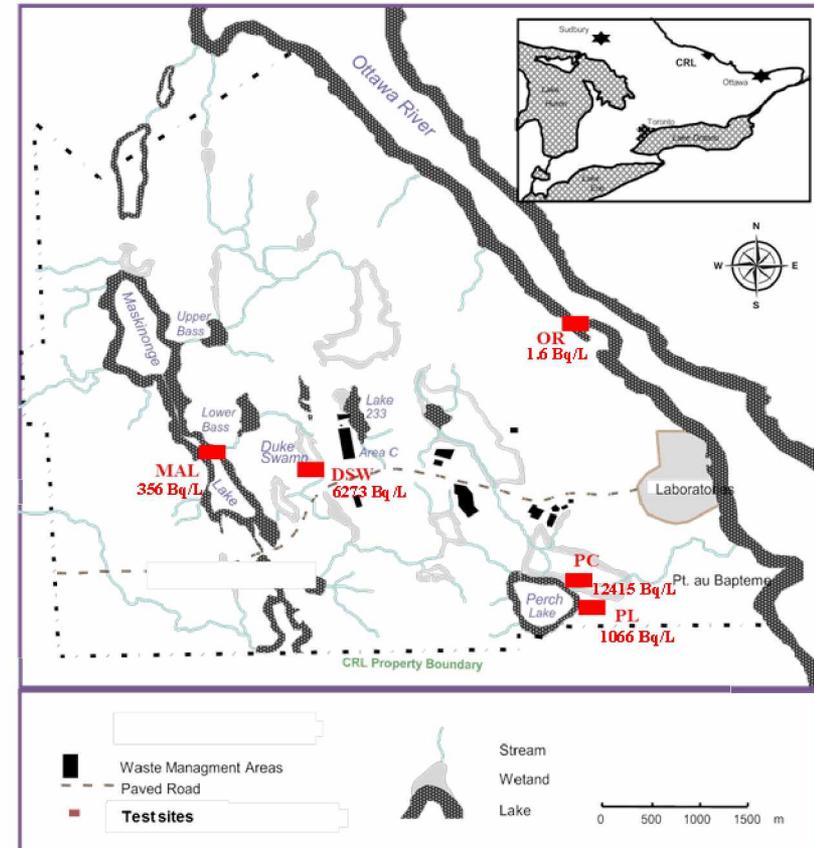


## CNL laboratoires, Chalk River (Canada)

- Réacteurs expérimentaux, isotopes médicaux : présence de tritium *in situ* + métaux
- Modèle : tête de boule, *Pimephales promelas* : commun dans les rivières nord américaines, utilisé en écotoxicologie
- Etude des effets d'une multipollution (tritium + métaux) sur le tête de boule – approche multibiomarqueurs

## Contamination:

- [<sup>3</sup>H] de 1 à 12000 Bq/L (ddd max **0,15 µGy/h**)
- Métaux (Fe, Al, Mn)
- Dérivation de l'eau des sites dans des glaciers
- Deux conditions: HTO (eau) et OBT (eau+nourriture\*)
- 60 jours contamination + 60 jours dépuración



# Tête de boule : biomarqueurs étudiés



Paramètres  
physiologiques

Acides gras

Ratio ARN/ADN et protéines/ADN

Indice de condition (K)

Indice gonado-somatique

HTO et OBT

Bioaccumulation

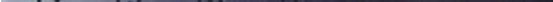
Neurotoxicité

Acétylcholinestérase

Male



Female



MN

Essai comètes

Génotoxicité

Epigénétique

Méthylation ADN

Immunotoxicité

Phagocytose

Apoptose

Lysosomes

ROS

Superoxide dismutase (SOD)

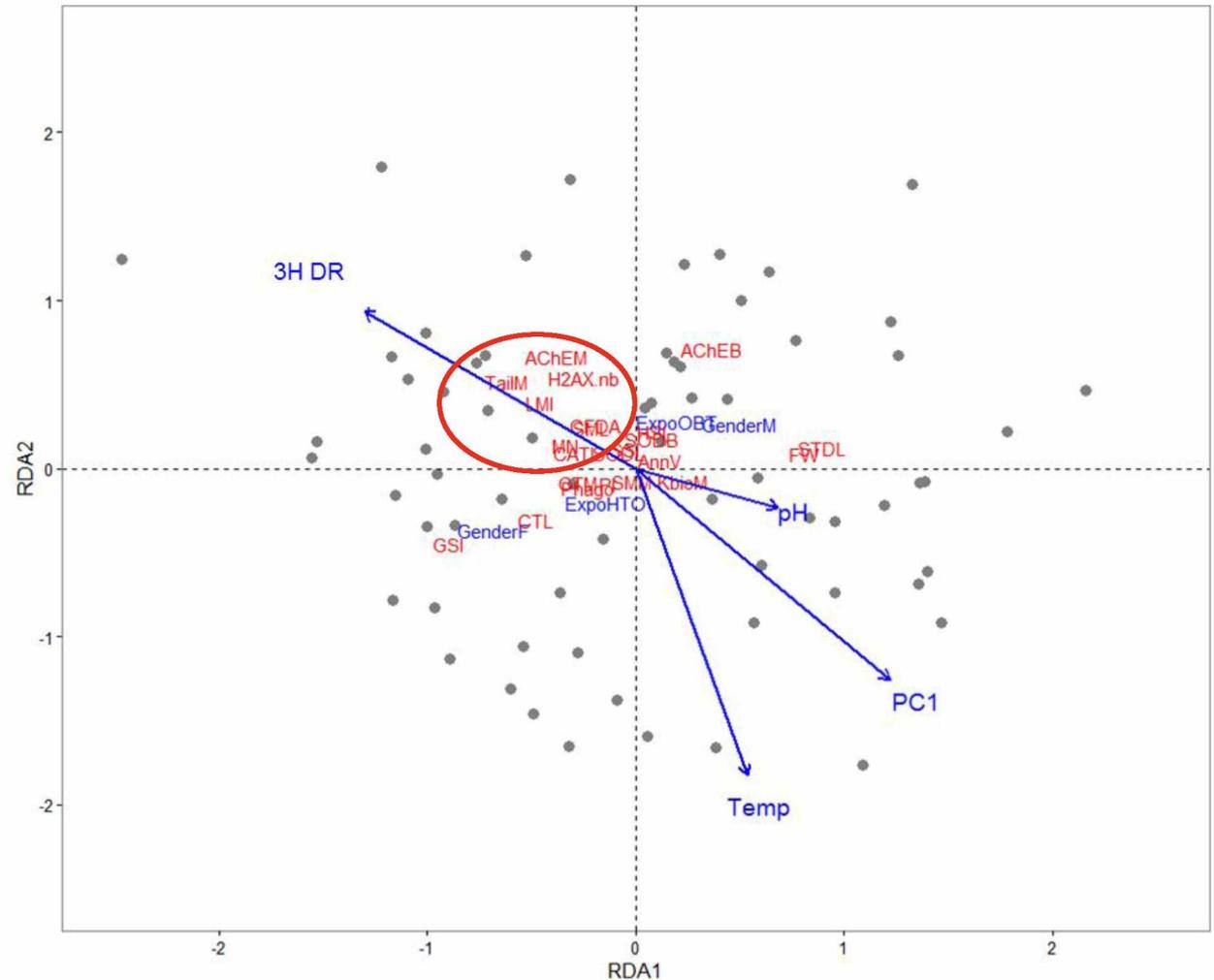
Catalase (CAT)

G-Peroxidase (GPX)

Stress oxydatif

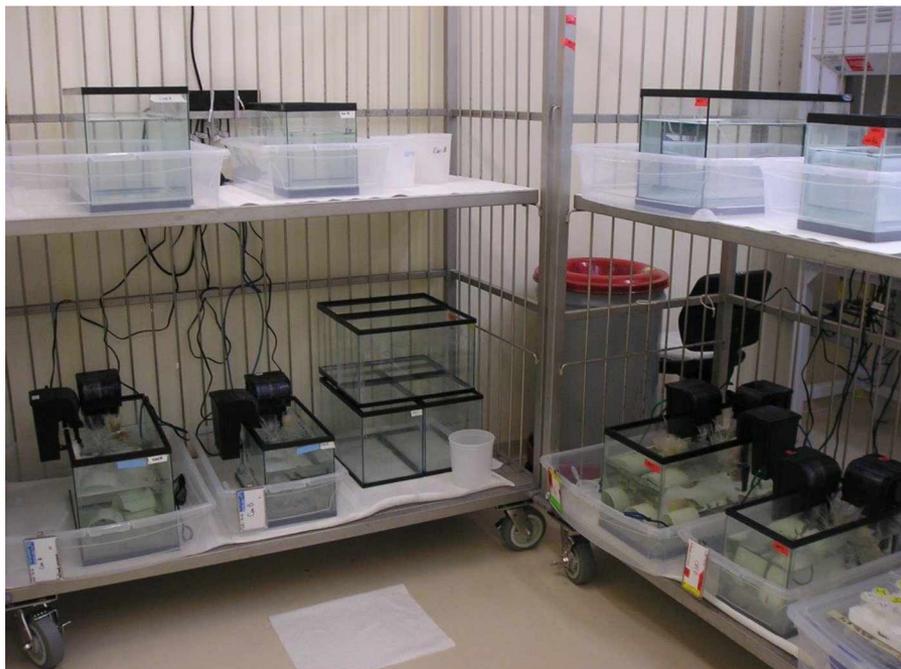


- **Pas d'effet** sur les indices de **condition** : faibles débits de dose
- RDA à D120 : **corrélation positive** entre le débit de dose interne en  $^3\text{H}$  et **plusieurs biomarqueurs** (LMI, MN, dommages ADN, H2AX, AChE, SOD, CAT, acides gras)
- Très peu de biomarqueurs liés aux métaux (PC1)





## ■ CNL laboratoires, Chalk River (Canada):



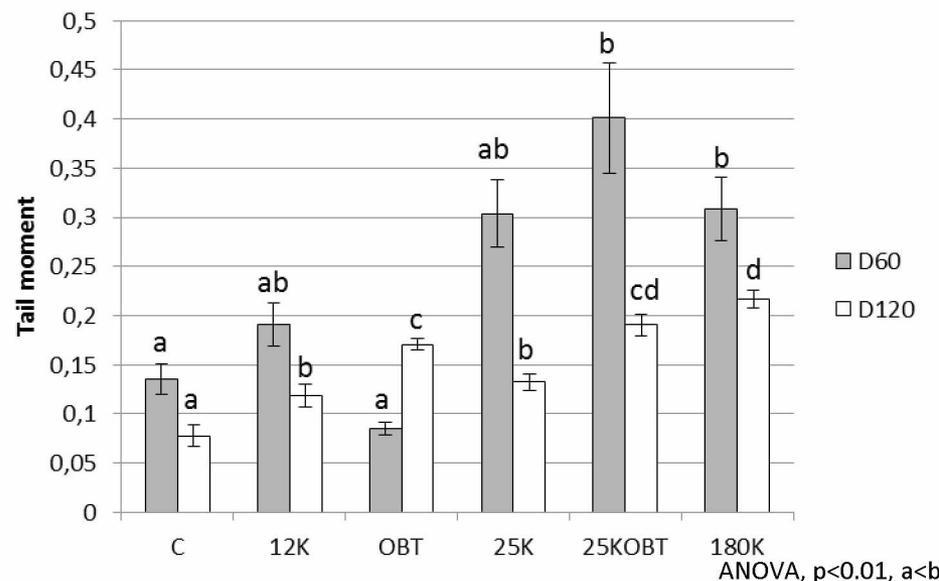
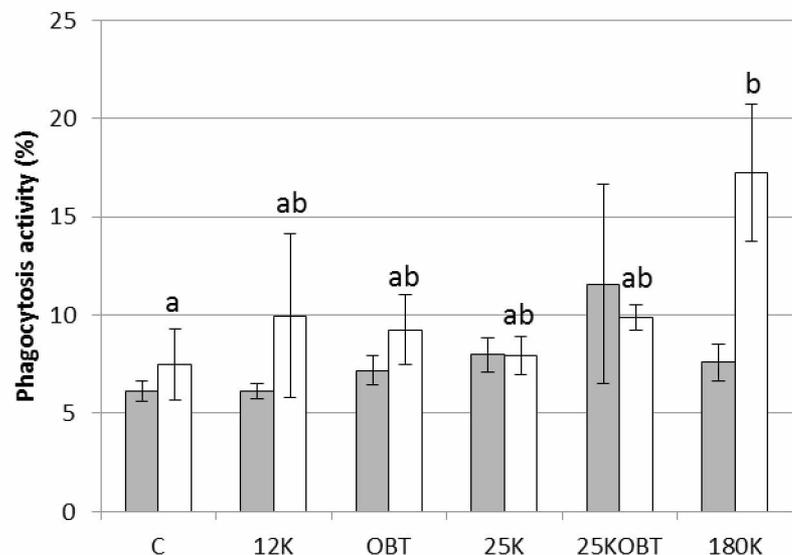
## ■ Contamination :

- Tête de boule, *Pimepales promelas*
- $[^3\text{H}]$  : 0-12K-OBT-25K-25KOBT-180K Bq/L (ddd max **0,65  $\mu\text{Gy/h}$** )
- Pas de métaux
- Deux conditions : HTO (eau) et OBT (eau+nourriture\*)
- 60 jours contamination + 60 jours dépuraton





## Pas d'effet sur les indices de condition (faibles débits de dose)



Corrélations ++ entre le débit de dose interne en  $^3\text{H}$  et plusieurs biomarqueurs : LMI, phagocytose, ROS, dommages ADN, fréquence MN, AChE

Effets sur les réponses immunitaires et génotoxiques pour les deux types d'exposition : possibles  
marqueurs d'effets du tritium

Gagnaire et al., in press

Ddd max = 0,15 (terrain) et 0,65  $\mu\text{Gy}/\text{h}$  (labo) // LOEDR = 12  $\mu\text{Gy}/\text{h}$  (Adam-Guillermin et al. 2012)

Valeur seuil pour la protection des écosystèmes = 10  $\mu\text{Gy}/\text{h}$  (Garnier-Laplace et al. 2010)

Résultats utiles pour affiner la valeur de protection des écosystèmes envers les RN / RI