



PAHs and Trace Metals in settled dust: what are their genotoxic effects in combination on gastric cells?

Rebecca Castel, L. Malleret, V. Tassistro, M. Claeys, M. Izard, Y. Noack, T. Orsière
Webinaire Jeunes chercheurs SFTG, 15 décembre 2020



Institut Pythéas
Observatoire des Sciences de l'Univers
Aix-Marseille Université

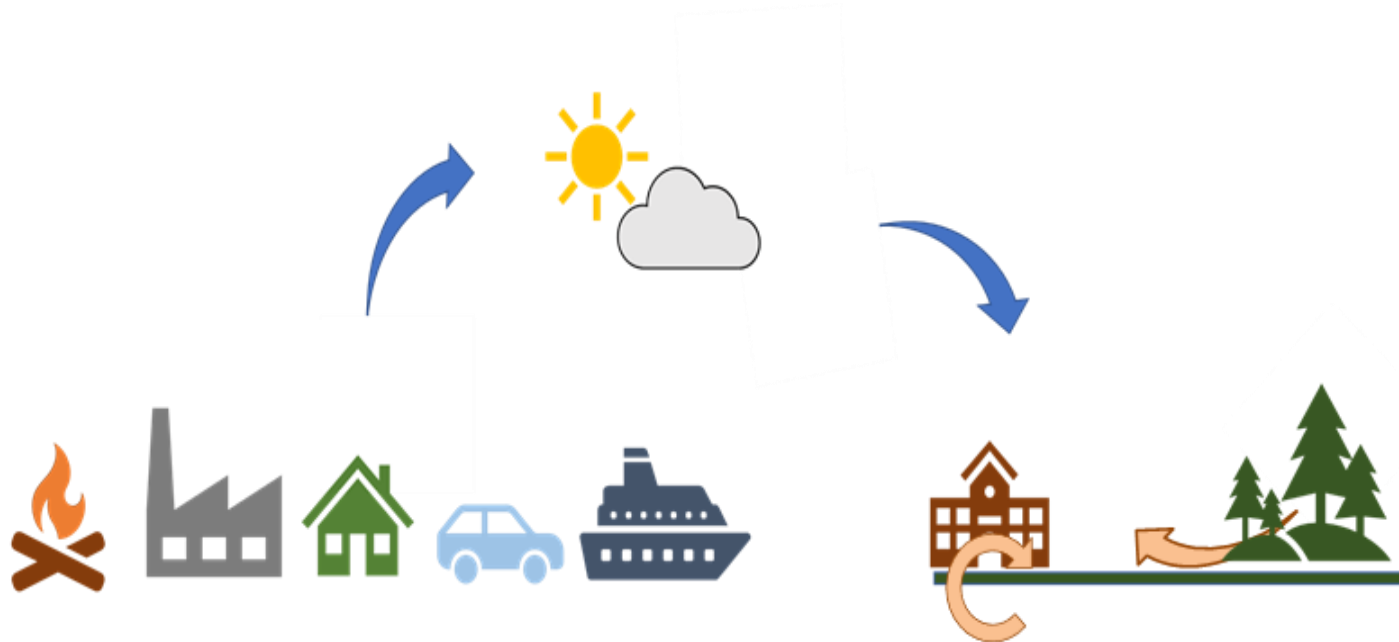
Introduction

Objectif

Méthodologie

Résultats préliminaires

Conclusion et Perspectives



Définition de poussières de sol:

« Tout type de particules sous forme déposées, quelles que soient leur origine et leur nature » (Association des ingénieurs allemands; cité par l'ANSES, 2019)

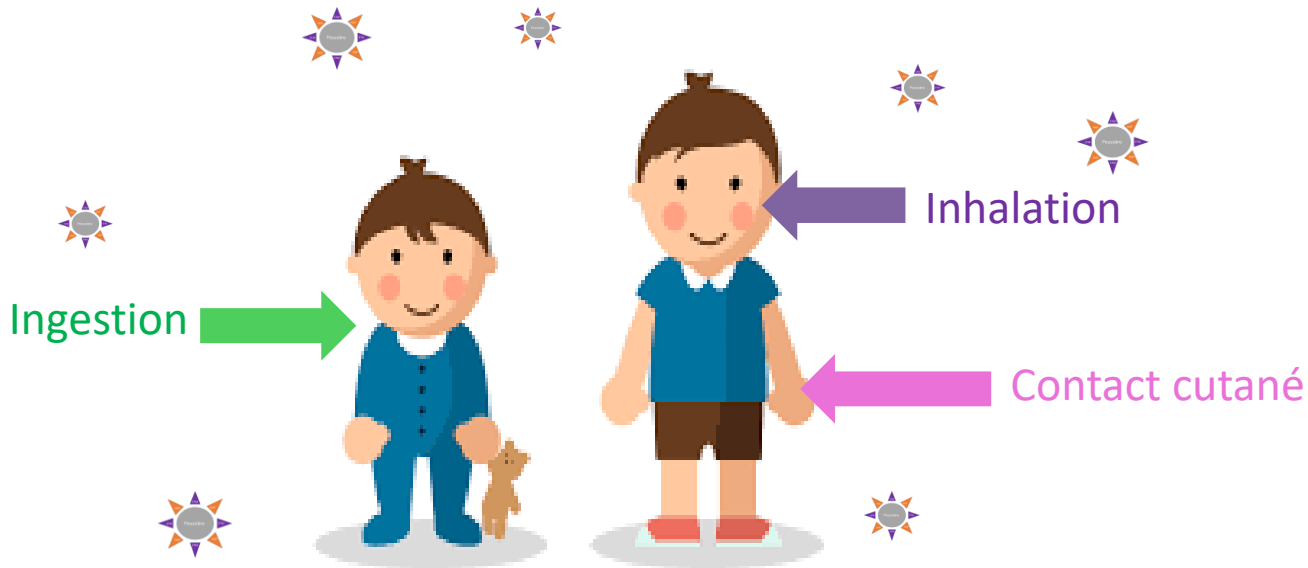
Introduction

Objectif

Méthodologie

Résultats préliminaires

Conclusion et Perspectives



Toxicité

- Inflammation
- Stress oxydant (Kim *et al.*, 2017)
- Génotoxicité (Çakmak *et al.*, 2019)

Ingestion chronique:
20-100 mg/jour (USEPA, 2017)

Introduction

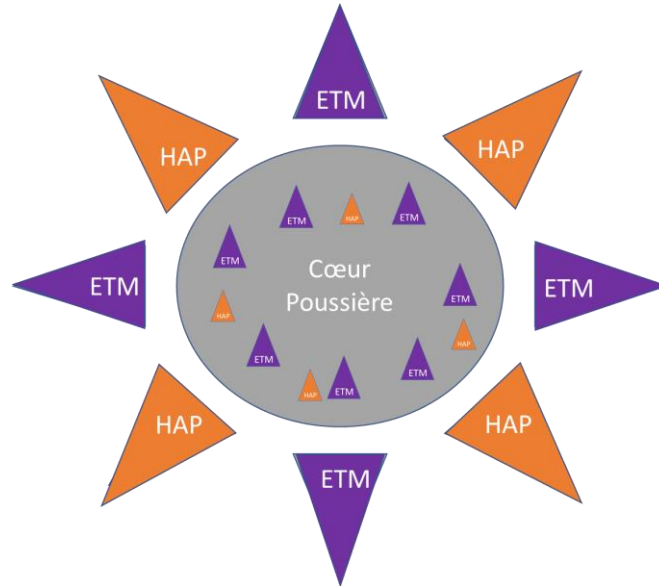
Objectif

Méthodologie

Résultats préliminaires

Conclusion et Perspectives

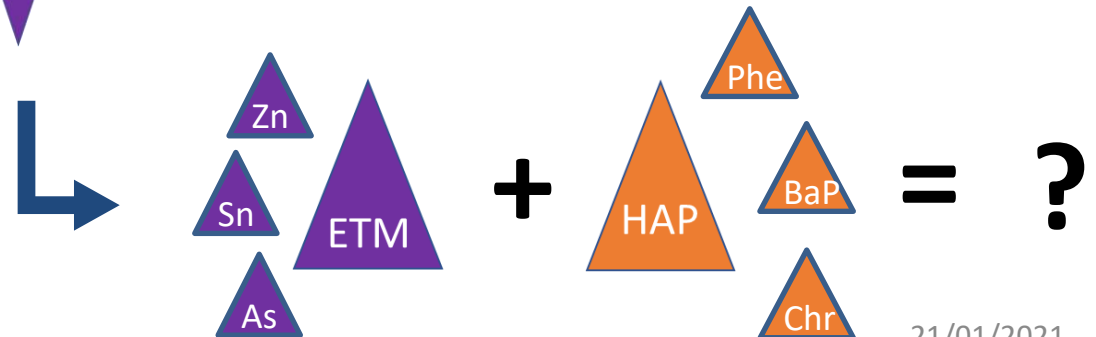
Poussière = contaminant et vecteur de contaminant



HAP = Hydrocarbures Aromatiques
Polycycliques

ETM = Eléments Traces Métalliques

Ubiquitaires et génotoxiques (ATSDR,
1995; ATSDR, 2004)



Introduction

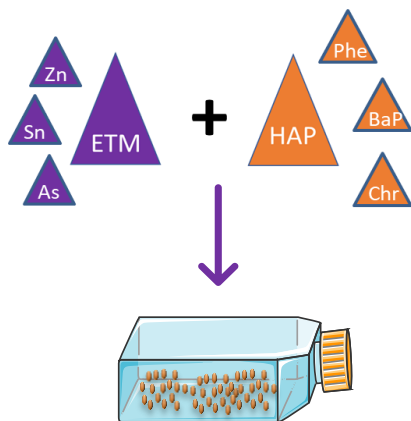
Objectif

Méthodologie

Résultats préliminaires

Conclusion et Perspectives

Evaluer les risques sanitaires chez les jeunes enfants engendrés par une exposition orale à un mélange de contaminants



Introduction

Objectifs

Méthodologie: sélection contaminant

Résultats préliminaires

Conclusion et Perspectives

Contaminants d'intérêt	Classification CIRC	Critères de sélection
Benzo(a)pyrène	1	Carcinogène et mutagène, traceur du raffinage du pétrole
Pyrène	3	Traceur de pyrolyse commune, distribution environnementale
Dibenz(a,h)anthracène	2A	Carcinogène, traceur de l'utilisation du diesel, distribution environnementale
Naphthalène	2B	Carcinogène , traceur de combustion de biomasse
Phénanthrène	3	Distribution environnementale
Benzo(b)fluoranthène	2B	Carcinogène, traceur du raffinage du pétrole
Arsenic	1	Carcinogène
Cadmium	1	Carcinogène et possible mutagène
Chrome	1 (hexavalent) / 3 (métallique)	Carcinogène du chrome hexavalent
Fer	∅	Distribution environnementale, réaction de Fenton
Plomb	2B	Carcinogène
Nickel	1	Carcinogène

Introduction

Objectifs

Méthodologie: plans d'expérience HAP

Résultats préliminaires

Conclusion et Perspectives

12 contaminants: 6 HAP – 6 ETM

- Infinité de mélanges: binaires, tertiaires, quaternaires, etc
- Besoin de plans d'expériences
- Pour les HAP: facteur d'équivalence toxique
 - Facteur utilisé dans les évaluations de risque
 - Calcul d'une concentration en équivalent BaP:
$$[\text{BaP}]_{\text{eq}} = \sum (C_i \times \text{TEF}_i)$$

HAP	TEF
BaP	1
Nap	0,001
Phe	0,001
Pyr	0,001
BbF	0,1
dBahA	1

Introduction

Objectifs

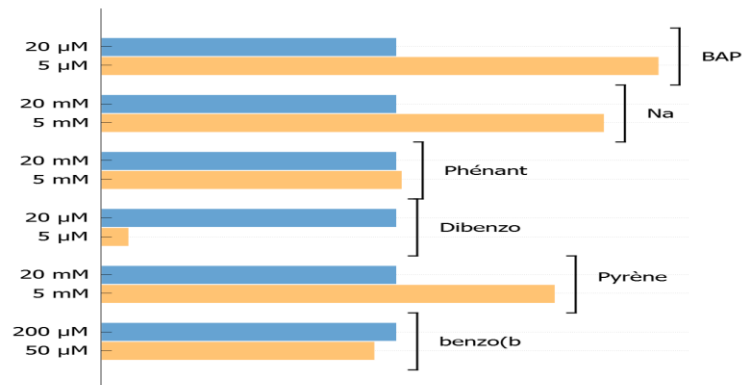
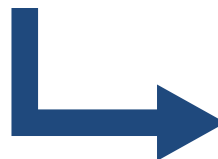
Méthodologie: plans d'expérience HAP

Résultats préliminaires

Conclusion et Perspectives

Exp.	BaP	Nap	Phé	dBahA	Pyr	BbF	Concentration [BaP] _{eq}
1	-1	-1	-1	+1	-1	+1	X1
2	+1	-1	-1	-1	+1	-1	X2
3	+1	+1	-1	-1	-1	+1	X3
4	-1	+1	+1	-1	-1	-1	X4
5	+1	-1	+1	+1	-1	-1	X5
6	-1	+1	-1	+1	+1	-1	X6
7	-1	-1	+1	-1	+1	+1	X7
8	+1	+1	+1	+1	+1	+1	X8

-1 : concentration basse
+ 1 : concentration haute



Principe du Cell Titer Blue® (fluorescence)

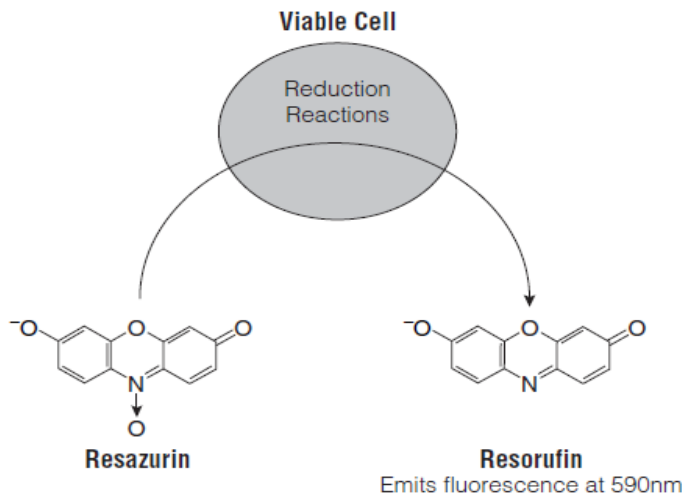
Introduction

Objectifs

Méthodologie:
test de cytotoxicité

Résultats
préliminaires

Conclusion et
Perspectives



Excitation: 560 nm
Emission: 590 nm



Facile
Sensible



Coût
HAP = fluorescents

Introduction

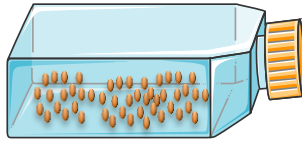
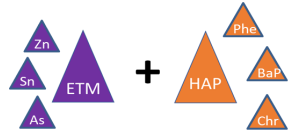
Objectifs

Méthodologie: génotoxicité des mélanges

Résultats préliminaires

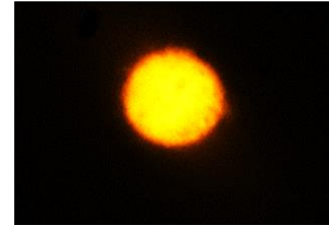
Conclusion et Perspectives

Exposition 4h et 24h
aux mélanges

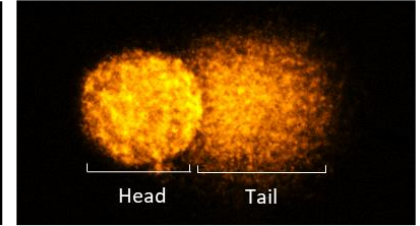


Cellules gastriques (AGS)
Temps de doublement = 20h

Test des comètes en conditions alcalines

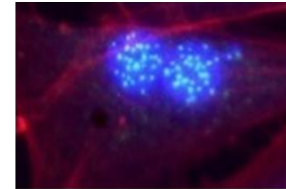


ADN non lésé

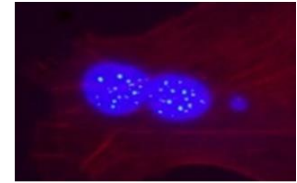


Présence de cassures à
l'ADN

C+MN

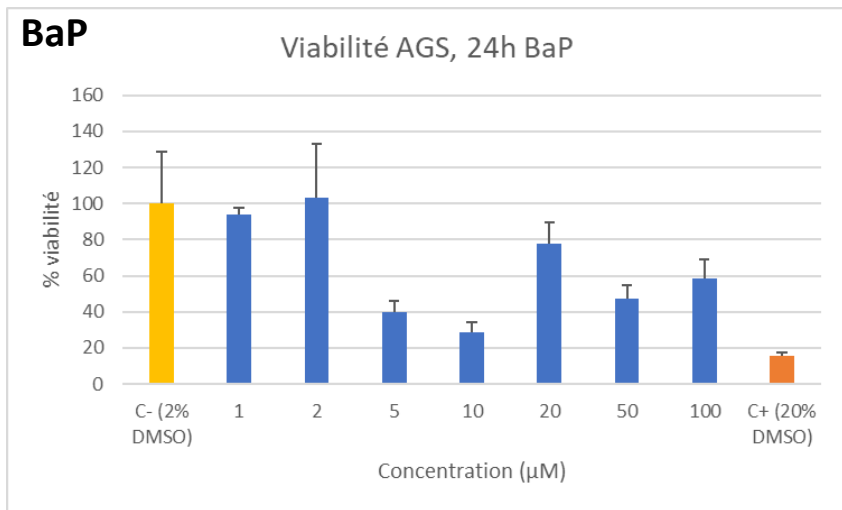


C-MN



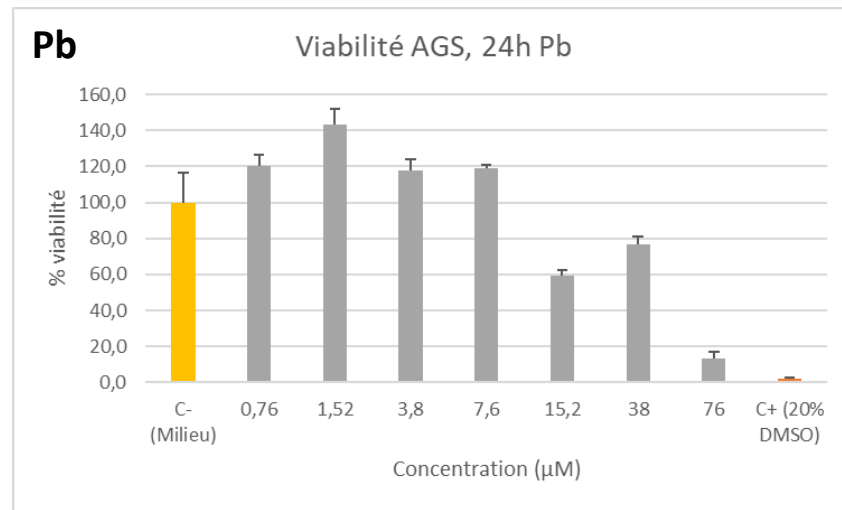
Test du micronoyau avec blocage de la
cytokinèse

Validité test cytotoxicité: exposition de 24h sur des cellules AGS (#49) (n = 1, triplicat), CellTiterBlue®



Range: 1-100 µM

Concentration médiane écoles: 0,3µM (Min 0µM - Max 1 µM)



Range: 0,7-76 µM

Concentration médiane écoles: 500µM (Min 80µM – Max 1 mM)

Introduction

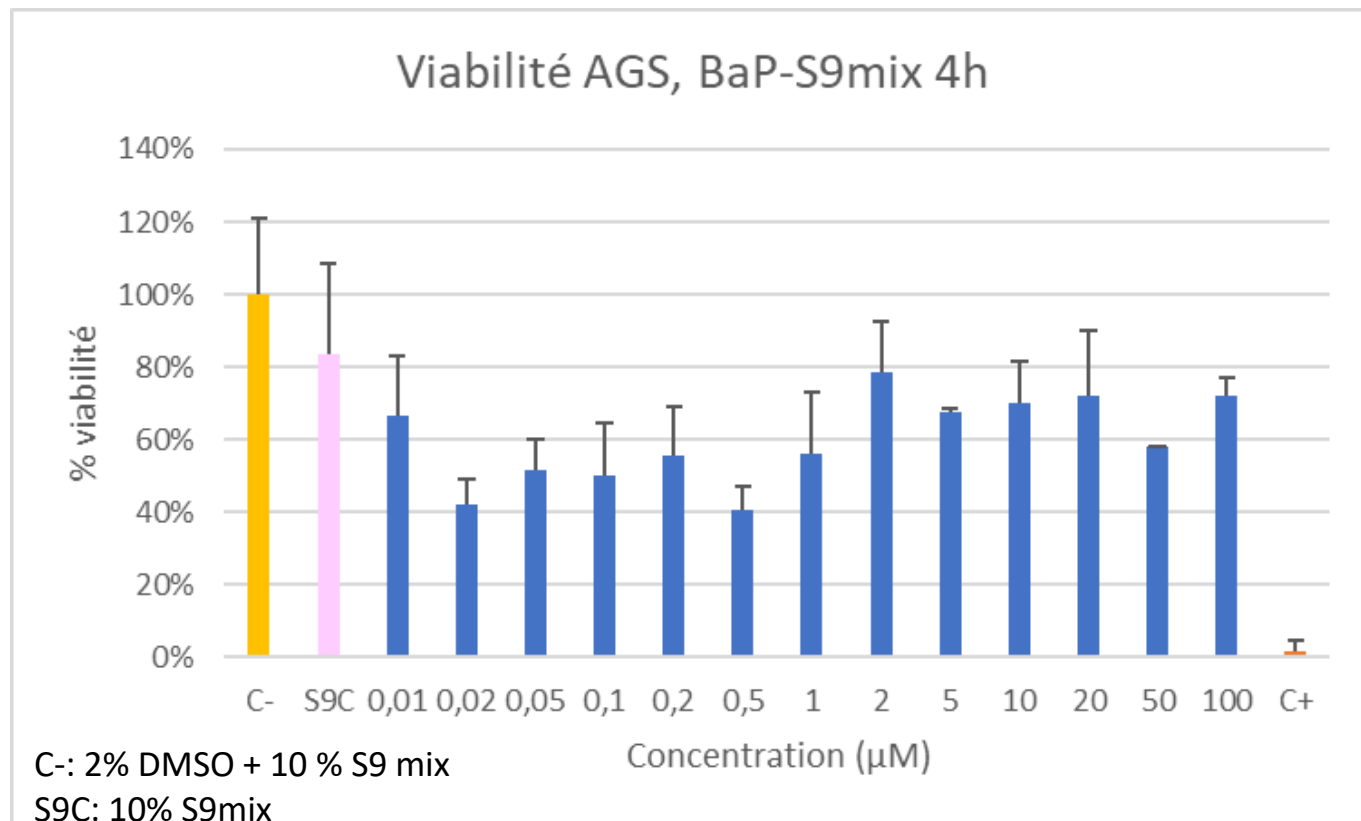
Objectifs

Méthodologie:
généotoxicité des
mélanges

Résultats
préliminaires

Conclusion et
Perspectives

Cytotoxicité du BaP-S9mix, exposition de 4h sur des AGS (#51)(n = 1, triplicat)



Cytotoxicité du BaP, exposition de 24h sur des cellules AGS (#51) (n=1, triplicat)

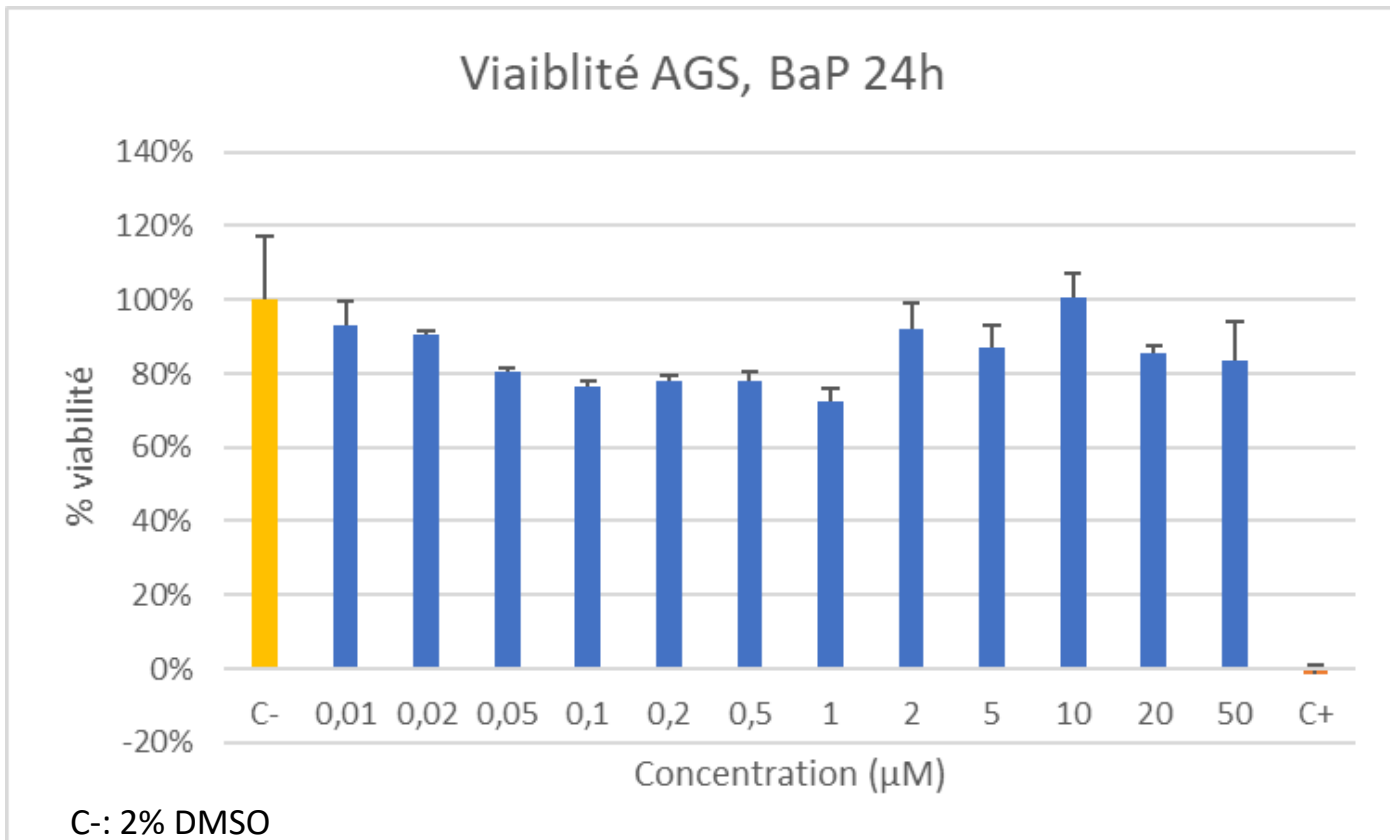
Introduction

Objectifs

Méthodologie: généotoxicité des mélanges

Résultats préliminaires

Conclusion et Perspectives



C-: 2% DMSO
C+: 5% Triton X

Introduction

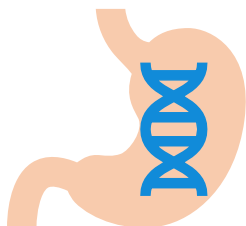
Objectif

Méthodologie

Résultats préliminaires

Conclusion et Perspectives

Plan d'expérience HAP déterminé + choix méthode cytotoxicité
Plus que la partie manip à faire!



Effets génotoxiques de mélanges de HAP, ETM, HAP + ETM sur des cellules gastriques?

Impact sanitaire par voie orale des poussières de sol issues d'écoles maternelles localisées dans divers contextes



Partenaires



Soutien financier





Merci pour votre attention

Contact: rebecca.castel@imbe.fr

WWW.IMBE.FR



Institut Pythéas
Observatoire des Sciences de l'Univers
Aix-Marseille Université

- Agency for Toxic Substances and Diseases Registry (ATSDR), 2004. *Interaction Profile For: Arsenic, Cadmium, Chromium, And Lead*. Atlanta.
- Agency for Toxic Substances and Disease Registry (ATSDR), 1995. *Toxicological Profile For Polycyclic Aromatic Hydrocarbons*. Atlanta.
- Agence Nationale de Sécurité Sanitaire, de l'alimentation, de l'environnement et du travail (ANSES), 2019. *Exposition Aux Poussières Sédimentées Dans Les Environnements Intérieurs*. Maisons-Alfort.
- Blanchard, O., Glorennec, P., Mercier, F., Bonvallet, N., Chevrier, C., Ramalho, O., Mandin, C. and Le Bot, B., 2014. Semivolatile Organic Compounds in Indoor Air and Settled Dust in 30 French Dwellings. *Environmental Science & Technology*, 48, p.3959-3969.
- Çakmak, G., Ertürk Ari, P., Emerce, E., Ari, A., Odabaşı, M., Schins, R., Burgaz, S. and Gaga, E., 2019. Investigation of spatial and temporal variation of particulate matter in vitro genotoxicity and cytotoxicity in relation to the elemental composition. *Mutation Research-Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis*, 842, pp.22-34.
- Gope, M., Masto, R., George, J. and Balachandran, S., 2018. Exposure and cancer risk assessment of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in the street dust of Asansol city, India. *Sustainable Cities and Societies*, 38, pp.616-626.
- Guney, M., Bourges, C., Chapuis, R. and Zagury, G., 2017. Lung bioaccessibility of As, Cu, Fe, Mn, Ni, Pb, and Zn in fine fraction (b20 µm) from contaminated soils and mine tailings. *Science of Total Environment*, 579, pp.378-386.
- Hejami, A., Davis, M., Prete, D., Lu, J. and Wang, S., 2020. Heavy metals in indoor settled dusts in Toronto, Canada. *Science of The Total Environment*, 703, p.134895.
- Kim, H., Choi, M., Park, M. and Seo, Y., 2017. Predictive and Prognostic Biomarkers of Respiratory Diseases due to Particulate Matter Exposure. *Journal of Cancer Prevention*, 22(1), pp.6-15.
- International Agency for Research on Cancer (IaRC), 2020. *List Of Classifications – IARC Monographs On The Identification Of Carcinogenic Hazards To Humans*. [online] Available at: <<https://monographs.iarc.fr/list-of-classifications>> [Accessed 02 December 2020].
- Maertens, R., Yang, X., Zhu, J., Gagne, R., Douglas, G. and White, P., 2007. Mutagenic and Carcinogenic Hazards of Settled House Dust I: Polycyclic Aromatic Hydrocarbon Content and Excess Lifetime Cancer Risk from Preschool Exposure. *Environmental Science & Technology*, 42(5), pp.1747-1753.
- Nisbet, I. and LaGoy, P., 1992. Toxic Equivalency Factors (TEFs) for Polycyclic Aromatic Hydrocarbons (PAHs). *Regulatory Toxicology and Pharmacology*, 16, pp.290-300.
- Promega, CellTiter-Blue® Cell Viability Assay, Instruction Manual
- Rasmussen, P., Levesque, C., Chénier, M., Garner, H., Jones-Otazo, H. and Petrovic, S., 2013. Canadian House Dust Study: Population-based concentrations, loads and loading rates of arsenic, cadmium, chromium, copper, nickel, lead, and zinc inside urban homes. *Science of Total Environment*, 443, pp.520-529.
- Stajic, J., Milenkovic, B., Pucarevic, M., Stojic, N., Vasiljevic, I. and Nikezic, D., 2016. Exposure of school children to polycyclic aromatic hydrocarbons, heavy metals and radionuclides in the urban soil of Kragujevac city, Central Serbia. *Chemosphere*, 146, pp.68-74.
- U. S. Environmental Protection Agency (USEPA), 2017. *Update For Chapter 5 Of The Exposure Factors Handbook Soil And Dust Ingestion*.
- Yuan, S., Li, K., Chen, T., Bi, X. and Wang, Q., 2013. Soil contamination by polycyclic aromatic hydrocarbons at natural recreational areas in Delaware, USA. *Environmental Earth Sciences*, 72(2), pp.387-398.