

Impact reprotoxique d'additif diesel contenant des nanoparticules de CeO_2 : approche *in vitro*

Cotena Martina (1-2), Tassistro Virginie (1), Rose Jérôme (2), and Auffan Mélanie (2). Perrin Jeanne (1-3)

(1) Faculty of Medicine, Aix Marseille Université,

Biomarqueurs, Environnement, Santé (BES) - Institut Méditerranéen de Biodiversité et d'Ecologie UMR 7263, IRD 237

(2) CEREGE, Aix-Marseille Université, CNRS, IRD, Collège de France, INRA, Aix-en-Provence, France

(3) AP-HM La Conception, Centre Clinico-Biologique d'Assistance Médicale à la Procréation - CECOS, 13385 Marseille Cedex 5, France.



What is known already

Polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs)

Ubiquitous pollutants

Benzo(a)pyrene B(a)P : carcinogenic, reprotoxic
induces DNA damage in gametes after *in vivo* exposure
(Einaudi et al. *Human Reprod.* 2014)

Cerium dioxide nanoparticles (CeO₂ NPs)

Diesel additive (among other uses) → associated to PAHs when released in air

Pristine CeO₂ NPs : reprotoxic, affect fertilization in mice and induce DNA damage in human sperm *in vitro*
(Préaubert et al. *Nanotoxicol.* 2015, *Toxicol. in vitro* 2018)

Combusted CeO₂ NPs : physico-chemical alteration
→ « aged » CeO₂ NPs (Auffan et al. *Env. Sci. Nano* 2017)





Study question

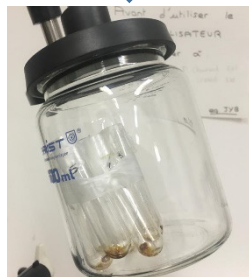
Do the co-exposure with B(a)P modify the DNA damage induced by *in vitro* exposure of human and rat gametes to aged CeO₂ NPs ?

Study design, methods

Prepare aged
CeO₂ NPs



Ultracentrifugation
Lyophilisation

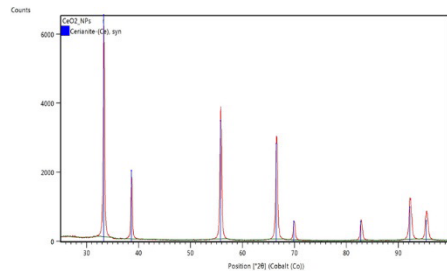


Combustion 850°C

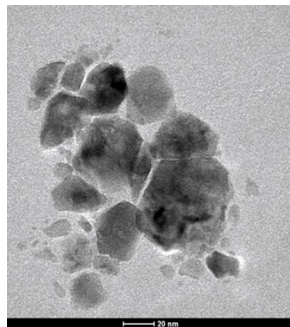
Aged CeO₂ NPs

Characterization

CHEMICAL (UN)STABILITY
ICP-MS



CRYSTALLINE
NATURE ANALYSIS
X-ray diffraction



TEM

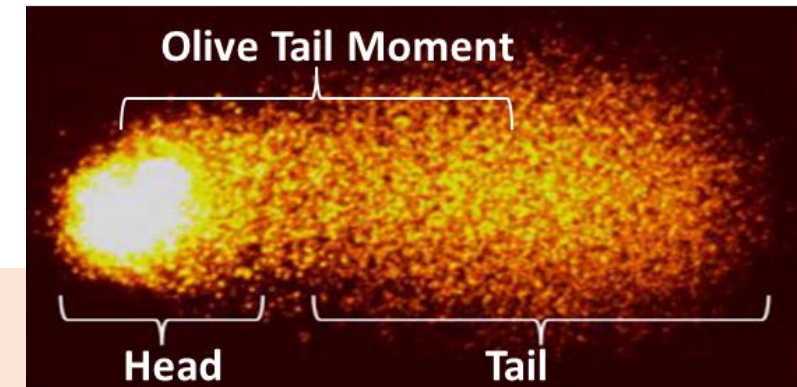
In vitro exposure
of gametes to
aged CeO₂ NPS
and B(a)P



In vitro exposure to:

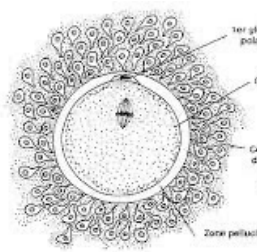
- B(a)P alone : 1,13 µM*
 - Aged CeO₂ NPs alone : 1 µg/L**
 - B(a)P + NPs
 - **Control** : culture medium
- 1 h in Ferticult© medium, 37°C, 5%CO₂
(*Baumgartner et al. 2012, **Préaubert et al. 2018)

Compare DNA damage :
-B(a)P alone
-NPs alone
-Mixture (B(a)P + NPs)



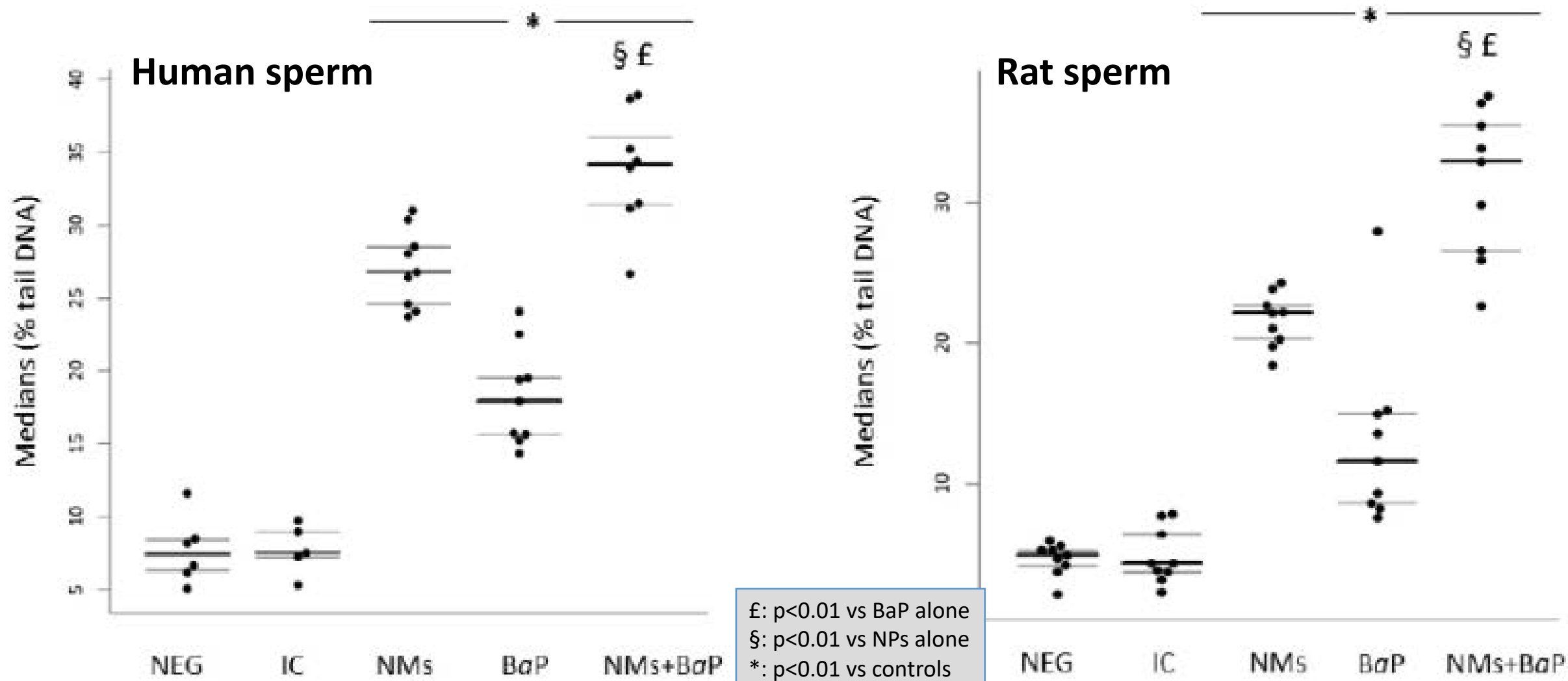
DNA DAMAGE
COMET ASSAY

Sperm
Oocytes
Cumulus cells

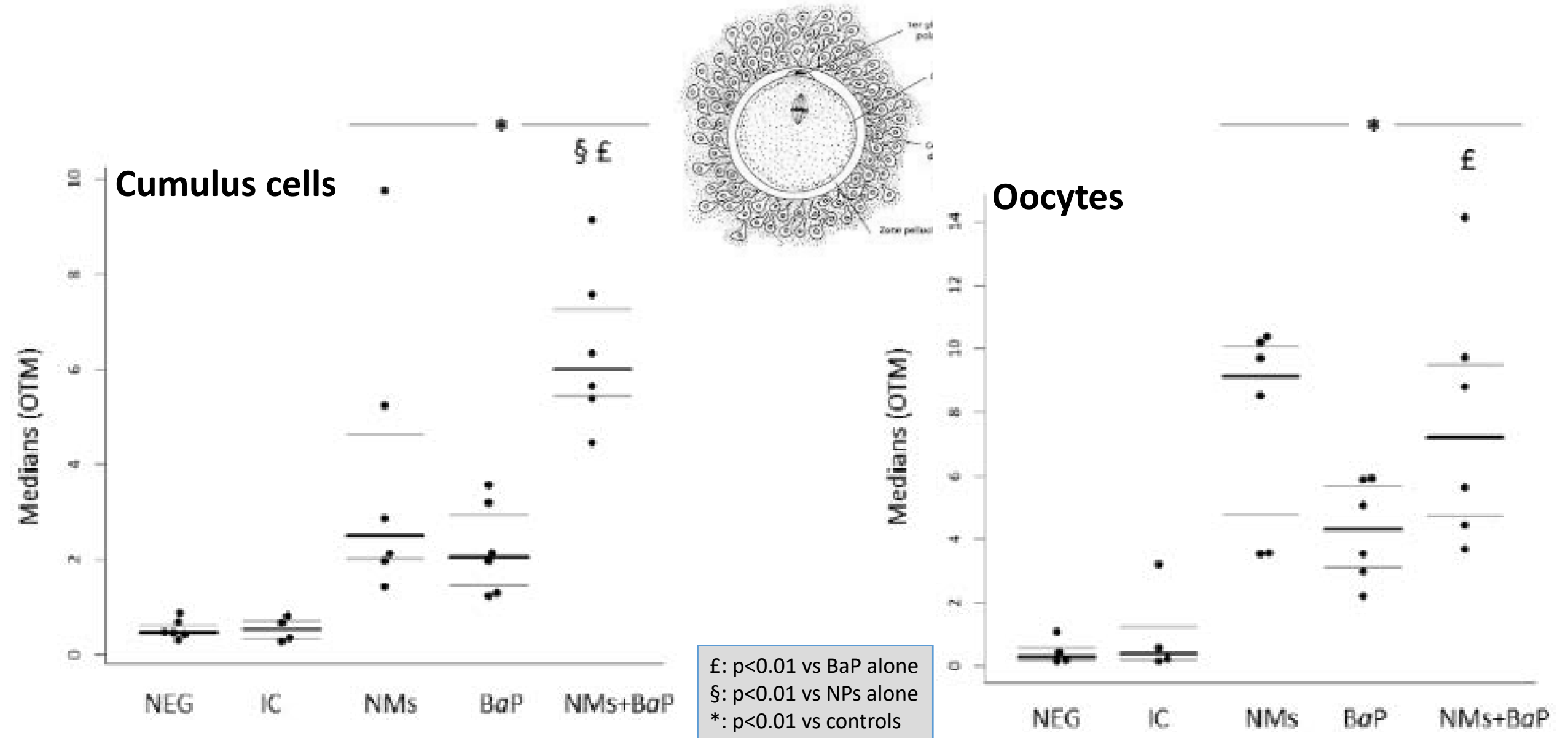


Results

***In vitro* sperm** co-exposure to aged CeO_2NPs + B(a)P induced significant higher DNA damage than exposure to pollutants alone (additive effect).



Higher DNA damage (additive effect) induced by co-exposure in cumulus cells but **not in oocytes**



- Effet génotoxique additif par exposition au mélange B(a)P + CeO₂NPs dans les **spermatozoïdes** et les cellules du **cumulus**, par rapport aux polluants isolés.
- Pas d'effet additif sur les **ovocytes**
- Protection de l'ovocyte par les cellules du cumulus / systèmes de réparation de l'ADN plus efficaces par rapport aux spz et cellules du cumulus

HAPs : polluant organique
le plus ubiquitaire dans
l'air ambiant



CeO₂ NPs: données animales
montrent qu'elles peuvent
s'accumuler dans les gonades
après inhalation

Points faibles: aspects non finalisés

- imagerie X (nanotomographie, plateforme NanoID) pour l'analyse des interactions NP/cellules: échec d'une manip puis arrêt (pandémie)
- analyses sur cellules germinales mâle immatures (spermatogonies)

Points forts :

- première étude analysant un scénario de co-contamination des cellules germinales
- proche des conditions d'exposition humaine (NM utilisé dans additif diesel, conditions de vieillissement réalistes, concentrations pertinentes)
- valorisation et perspectives



Vers une approche holistique de l'Impact des nanoparticules de CeO_2 altérées par combustion sur la reproduction : du modèle animal au mésocosme aquatique

Exposition subchronique par inhalation exclusive chez le rat et étude en mésocosme aquatique. Les effets biologiques, la (bio)distribution et la (bio)transformation du Ce et du BaP seront étudiés dans les compartiments de la reproduction chez le rat et dans les organismes aquatiques benthiques et planctoniques.

Production scientifique issue du projet



nanomaterials

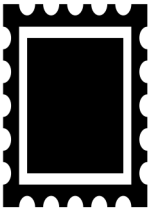
Impact Factor = 5,076



Article

In Vitro Co-Exposure to CeO₂ Nanomaterials from Diesel Engine Exhaust and Benzo(*a*)Pyrene Induces Additive DNA Damage in Sperm and Cumulus Cells but not in Oocytes

Martina Cotena ^{1,2}, Mélanie Auffan ^{2,3}, Virginie Tassistro ¹, Noémie Resseguier ⁴, Jérôme Rose ^{2,3} and Jeanne Perrin ^{1,5,*}



-36th Annual Meeting European Society of Human Reproduction and Embryology, July 2020

-47th European Environmental Mutagenesis and Genomic Society (EEMGS), May 2019, Rennes, France

-Journée scientifique Biologistes des Laboratoires d'Etude de la Fécondation et de la Conservation de l'Oeuf, (BLEFCO) section "Jeunes Chercheurs", June 2019, Paris, France

-35th Annual Meeting European Society of Human Reproduction and Embryology, June 2019, Vienna, Austria

Young researcher award
(BLEFCO), 2019



“This project has received funding from the **European Union’s Horizon 2020** research and innovation programme under the **Marie Skłodowska-Curie** grant agreement No713750. Also, it has been carried out with the financial support of the **Regional Council of Provence- Alpes-Côte d’Azur**, of the **A*MIDEX** (n° ANR- 11-IDEX-0001-02), funded by the Investissements d’Avenir project funded by the French Government, managed by the French National Research Agency (ANR), and of the **ECCOREV** Research Federation.)”



Commission européenne



Région
Provence
Alpes
Côte d'Azur

