

Effets des substituts du bisphénol A à différentes échelles d'organisation biologique chez l'épinoche : des biomarqueurs à la dynamique de population.

Directeur de thèse : Rémy BEAUDOUIN et Anne BADO-NILLES

Ecole doctorale : ABIES

Résumé

Les biomarqueurs sont des outils nécessaires pour établir un diagnostic précoce du risque environnemental. A l'INERIS, le développement et la validation de biomarqueurs chez l'épinoche à trois épines ont permis de disposer d'un ensemble complémentaire d'indicateurs biologiques. Cependant, les principales limitations de ces mesures de biomarqueurs pour l'évaluation de la qualité des écosystèmes sont l'extrapolation des réponses d'une échelle d'organisation biologique à une autre, entre le laboratoire et le terrain, et d'une espèce à une autre (Garric et al. 2010). Plus généralement, la traduction des déficits fonctionnels chez les individus (mesurés en conditions contrôlées au laboratoire ou lors de campagnes de biosurveillance) en effets au niveau des populations est un grand défi pour l'évaluation des dangers et risques écologiques des substances chimiques.

En pratique, un des seuls moyens envisageables pour faire le lien entre les observations expérimentales et l'unité biologique protégée est l'utilisation de modèles mathématiques mécanistiques. Le développement de tels modèles nécessite des données disponibles sur l'ensemble des niveaux biologique à relier : biomarqueurs, traits individuels, et dynamique de population.

Les expériences conduites ces dernières années sur les substituts du bisphénol A (BPS et BPF) chez l'épinoche en laboratoire et en écosystème expérimental (mésocosme), nous fournissent cette base de données nécessaire au développement de ces modèles. En effet, lors de ces expériences, des mesures des biomarqueurs d'effet précoce sur des poissons exposés ont été menées en parallèle du suivi des effets sur leur dynamique de population (individus exposés toute leur vie et naïfs vis-à-vis des substances).

En parallèle des expérimentations menées sur les biomarqueurs chez l'épinoche, le développement d'un ensemble de modèles mathématiques pour intégrer les différentes échelles biologiques et simuler les effets dus aux expositions aux substances chimiques été initié lors des projets Doremipharm (ANSM), EFSA et DIADeM (UE Interreg).

Ainsi, en se basant sur les données expérimentales disponibles et modèles mathématiques en cours de développement, nous proposons de relier les biomarqueurs d'effet précoce, aux effets sur les performances des organismes, et par la suite aux conséquences à long terme pour les populations.

Ce projet de thèse vise donc à analyser les données obtenues sur les bisphénols, à conduire des expériences en conditions contrôlées et à développer des modèles mathématiques afin de relier les expositions, des réponses biologiques précoces (biomarqueurs), des effets sur les traits et performances des organismes, et la viabilité des populations. Ce travail s'inscrit dans le cadre du projet PARC (Partnership for the Assessment of Risks from Chemicals) et du projet Orion (projet Interreg VI). Ainsi, la démarche proposée devrait améliorer la prise de décision réglementaire pour des substances à toxicité intermédiaire, pour lesquelles l'excès ou l'absence de risque aux concentrations environnementales est difficile à établir uniquement à partir de données produites en laboratoire.

Mots clés

Mésocosme ; Modélisation mécanistique ; Biomarqueur ; changement d'échelle ; épinoche à trois épines ; bisphénols

Effects of the substitutes of the BPA at different levels of biological organization in sticklebacks: from biomarkers to population dynamics.

Abstract

We offer a PhD thesis opportunity that combines both experimental data generation and mathematical modeling of these data, also based on data and models developed in previous work.

Biomarkers are necessary tools for establishing an early diagnosis of environmental risk. At INERIS, the development and validation of biomarkers in the three-spined stickleback have made it possible to have a complementary set of biological indicators. However, the main limitations of these biomarker measurements for assessing ecosystem quality are the extrapolation of responses from one biological organizational scale to another, from the laboratory to the field, and from one species to another (Garric et al. 2010). More generally, the translation of functional deficits in individuals (measured under controlled laboratory conditions or during biomonitoring campaigns) into effects at the population level is a major challenge for assessing the ecological hazards and risks of chemical substances.

In practice, one of the only conceivable means of linking experimental observations to the protected biological unit is through the use of mechanistic mathematical models. The development of such models requires data available on all biological levels to be linked: biomarkers, individual traits, and population dynamics.

Experiments conducted in recent years on substitutes for bisphenol A (BPS and BPF) with the stickleback in laboratory and experimental ecosystem (mesocosm) provide us with the necessary database for developing these models. Indeed, during these experiments, measurements of biomarkers of early effect on exposed fish were conducted in parallel with monitoring of effects on their population dynamics (exposed individuals throughout their lives and naive with respect to the substances).

In parallel with the experiments conducted on biomarkers in the stickleback, the development of a set of mathematical models to integrate the different biological scales and simulate the effects of chemical exposures was initiated during the Doremipharm (ANSM), EFSA, and DIADeM (EU Interreg) projects.

Thus, based on the available experimental data and ongoing mathematical models, we propose to link early effect biomarkers to effects on organism performance, and subsequently to long-term consequences for populations.

This thesis project aims to analyze the data obtained on bisphenols, to conduct experiments under controlled conditions, and to develop mathematical models to link exposures, early biological responses (biomarkers), effects on traits and performance of organisms, and population viability. This work is part of the PARC (Partnership for the Assessment of Risks from Chemicals) and Orion (Interreg VI project) projects. Thus, the proposed approach should improve regulatory decision-making for substances with intermediate toxicity, for which the excess or absence of risk at environmental concentrations is difficult to establish based solely on data produced in the laboratory.

Key words

Mesocosm; Mechanistic modelling; Biomarker; extrapolation problem; Threespine stickleback; Bisphenols

Contexte et objectif de la thèse

Le bisphénol A (BPA), est un perturbateur endocrinien oestrogène-mimétique qui du fait de son activité de PE est interdit dans les plastiques en contact direct avec des denrées alimentaires. Par conséquent, il est alors apparu sur le marché des substituts du BPA, tels que les bisphénols AF, B, F, S et les diméthyl-BPA, qui semblent interagir aussi avec le système endocrinien (Le Fol et al. 2015, Moreman et al. 2017). Ainsi, les substituts du bisphénol A sont des molécules préoccupantes d'un point de vue de leurs éventuels effets écotoxiques et pour lesquels nous disposons déjà de certaines données (Le Fol et al. 2015, Faheem and Bhandari 2021).

Pour répondre à ces enjeux, les deux dernières expériences dans les écosystèmes expérimentaux (mésocosmes) ont été menées avec deux substituts du bisphénol A : BPS et BPF. Lors de ces expériences, la dynamique de population de l'épinoche a été suivie pendant 6 mois sous trois conditions d'exposition. En parallèle, des mesures de biomarqueurs d'effet précoce ont été menées sur (i) des poissons « naïfs » engagés dans les mésocosmes en cours d'expérience et (ii) des poissons nés dans les populations exposées toute leur vie et dont les parents ont été exposés (mesure en fin d'expérience). De plus, en parallèle, des données en laboratoire (conditions et exposition complètement contrôlées) ont été obtenues sur ces mêmes molécules pour relier et comprendre finement le lien entre exposition, dose interne et réponse des biomarqueurs.

Les biomarqueurs fonctionnent comme un système d'alarme précoce d'une exposition des organismes aux contaminants et traduisent un risque potentiel pour le maintien de l'individu. Le risque pour l'écosystème devrait être établi non seulement pour l'individu, mais également pour la population, et pour une multitude d'espèces à partir d'informations sur une ou quelques espèces (Forbes et al. 2006). Ainsi, les principales limitations des mesures de biomarqueurs pour l'évaluation de la qualité des écosystèmes sont d'extrapoler des réponses d'une échelle d'organisation biologique à une autre (cellule-individu-population-communauté) et d'une espèce à une autre (Garric et al. 2010). Plus généralement, la traduction des déficits fonctionnels chez les individus (mesurés en conditions contrôlées au laboratoire ou lors de campagnes de biosurveillance) en effets au niveau des populations est un grand défi pour l'évaluation des dangers et risques écologiques des substances chimiques.

Une alternative prometteuse pour combler cette lacune entre les observations expérimentales et l'unité biologique à protéger est l'utilisation de modèles mathématiques mécanistiques dédiés au changement d'échelle (Forbes et al. 2008, Beaudouin et al. 2012, Beaudouin et al. 2015). Pour l'épinoche à trois épines, le développement d'un ensemble de modèles mathématiques pour intégrer les différentes échelles et simuler les effets dus aux expositions aux substances chimiques a été initié lors des projets précédent (Doremipharm, ANSM ; DIADeM, UE Interreg III ; EFSA). Ainsi, nous disposons de modèles de toxicocinétique (Grech et al. 2019, Mit et al. 2022), de modèles reliant la toxicocinétique et les réponses de certains biomarqueurs (Mit et al. 2023), et de modèles intégrant les effets sur les organismes pour prédire les conséquences pour la viabilité des populations (David et al. 2018, Leloutre et al. 2018, David et al. 2019). Cependant, pour appliquer ces modèles aux données obtenues lors de campagne de biosurveillance, une étape clé reste à investiguer : relier les réponses biologiques précoces (biomarqueurs) et les effets sur les traits et performances des organismes.

Les expériences conduites ces dernières années sur les substituts du bisphénol A en laboratoire et en écosystème expérimental (mésocosme), nous fournissent la base de données nécessaire au développement de tels modèles. Ce projet de thèse visera donc à analyser les données obtenues sur les bisphénols, à conduire des expériences en conditions contrôlées et à développer des modèles mathématiques afin de relier les expositions, des réponses biologiques précoces (biomarqueurs), des effets sur les traits et performances des organismes, et la viabilité des populations.

Enjeux scientifiques

Les études d'écotoxicologie menées sur les bisphénols chez l'épinoche à l'INERIS à différentes échelles biologiques ont permis de générer un large ensemble de données : (i) plusieurs jeux de données pour tester les prédictions (mésocosmes), (ii) données dose/réponse en aquarium (conditions contrôlées au laboratoire) sur les traits et biomarqueurs d'effet (thèse Corentin MIT). L'ensemble de ces données offre l'opportunité de relier les biomarqueurs d'effet mesurés sur les organismes avec des effets sur les traits et performances

des organismes, et par la suite, la viabilité des populations. Un des enjeux de cette extrapolation sera la temporalité/dynamique des effets entre les échelles biologiques.

Pour l'épinoche à trois épines, les modèles mathématiques développés fourniront les outils adaptés pour intégrer différentes échelles biologiques, différents types d'observations et les relations entre ces variables.

Enjeux opérationnels

La thèse visant à proposer un modèle permettant d'évaluer les incidences de substances chimiques sur les performances des individus et sur la dynamique des populations d'un poisson modèle, permettra une caractérisation plus certaine du risque écotoxicologique, en particulier les LOECs population (David et al. 2019). En effet, cette approche permettra de prendre en compte les facteurs confondants (par exemple la température), d'extrapoler au-delà des standards expérimentaux, de définir différents scénarios d'exposition et d'étudier leurs conséquences, de relier les différents niveaux d'organisations biologiques et donc d'extrapoler au niveau d'organisation souhaité. Enfin, la thèse permettra une analyse plus fine des données produites en mésocosmes, en appui à l'évaluation du risque écotoxicologique. Ainsi, la démarche proposée devrait améliorer la prise de décision réglementaire pour des substances à toxicité intermédiaire, pour lesquelles l'excès ou l'absence de risque aux concentrations environnementales est difficile à établir uniquement à partir de données produites en laboratoire.

Déroulement des travaux de thèse

Dans le présent projet de thèse, nous proposons d'analyser à l'aide de modèles mathématiques les données acquises chez l'épinoche lors des différentes expériences conduites en mésocosmes et au laboratoire (biomarqueurs), pour prédire les effets à long terme des bisphénols (seul ou en mélange) sur la viabilité des populations sous différents scénarios écologiques.

Tâche 1. Expérimentation sur le lien entre réponses biologiques précoces et effets sur les traits et performances des organismes

- Revue bibliographique sur les liens proposés sur les biomarqueurs mesurés quelques soit l'espèce : sélection des biomarqueurs les plus adaptés au changement d'échelle (article de revue).
- Analyse des données historiques : mise en évidence de liens (mesures de biomarqueurs en mésocosme et en laboratoire) ?
- Proposition d'un plan d'expérience et réalisation de l'expérience pour quantifier les relations entre réponses biologiques précoces et effets sur les traits et performances des organismes (projet Orion)
- Développement d'une modélisation du lien et intégration au modèle de dynamique de population : quantification de la valeur ajoutée.

Tâche 2. Analyse approfondie des données sur le bisphénol S :

- Analyse des effets sur les populations de poissons, mise en relation des réponses des biomarqueurs et des réponses des populations, prédiction des effets à long terme sous différents scénarios écologiques.
- Données déjà disponibles : Expérience mésocosme de 2019 et expérience 21 jours en laboratoire.

Tâche 3. Analyse approfondie des données sur le bisphénol F :

- Analyse des effets sur les populations de poissons, mise en relation des réponses des biomarqueurs et des réponses des populations, prédiction des effets à long terme sous différents scénarios écologiques.
- Données déjà disponibles : Expérience mésocosme de 2019 et expérience 21 jours en laboratoire.

Profil du candidat

- Ecole d'ingénieur ou Master II
- Biostatisticien / Biomathématicien avec de bonnes connaissances en biologie/physiologie / écotoxicologie.
- Biologiste/écotoxicologue avec un fort attrait pour la modélisation.

Informations pratiques

Financement : La thèse sera soutenue financièrement à 100% par l'Ineris qui emploiera le ou la doctorant.e en CDD pendant toute la durée de la thèse.

Lieu de déroulement de la thèse : INERIS, Verneuil 100% de son temps

Date souhaitée pour le début de la thèse : **1/10/2023**

Contact :

Rémy Beaudouin

Parc technologique Alata - BP2, F-60550 Verneuil-en-Halatte

Téléphone : 03 44 61 82 38

e-mail : remy.beaudouin@ineris.fr

Bibliographie

- Beaudouin, R., V. Dias, J. M. Bonzom, and A. Pery. 2012. Individual-based model of *Chironomus riparius* population dynamics over several generations to explore adaptation following exposure to uranium-spiked sediments. *Ecotoxicology* 21:1225-1239.
- Beaudouin, R., B. Goussen, B. Piccini, S. Augustine, J. Devillers, F. Brion, and A. R. Pery. 2015. An individual-based model of zebrafish population dynamics accounting for energy dynamics. *Plos One* 10:e0125841.
- David, V., B. Goussen, C. Tebby, S. Joachim, J. M. Porcher, and R. Beaudouin. 2018. Modelling historical mesocosm data: Application of a fish bioenergetics model in semi-natural conditions. *Ecology of Freshwater Fish* 27:1101-1113.
- David, V., S. Joachim, C. Tebby, J.-M. Porcher, and R. Beaudouin. 2019. Modelling population dynamics in mesocosms using an individual-based model coupled to a bioenergetics model. *Ecological Modelling* 398:55-66.
- Faheem, M., and R. K. Bhandari. 2021. Detrimental Effects of Bisphenol Compounds on Physiology and Reproduction in Fish: A Literature Review. *Environmental Toxicology and Pharmacology* 81:14.
- Forbes, V. E., P. Calow, and R. M. Sibly. 2008. The extrapolation problem and how population modeling can help. *Environmental Toxicology and Chemistry* 27:1987-1994.
- Grech, A., C. Tebby, C. Brochot, F. Y. Bois, A. Bado-Nilles, J. L. Dorne, N. Quignot, and R. Beaudouin. 2019. Generic physiologically-based toxicokinetic modelling for fish: Integration of environmental factors and species variability. *Sci Total Environ* 651:516-531.
- Le Fol, V., S. Ait-Aissa, N. Cabaton, L. Dolo, M. Grimaldi, P. Balaguer, E. Perdu, L. Debrauwer, F. Brion, and D. Zalko. 2015. Cell-Specific Biotransformation of Benzophenone-2 and Bisphenol-S in Zebrafish and Human in Vitro Models Used for Toxicity and Estrogenicity Screening. *Environmental Science & Technology* 49:3860-3868.
- Leloutre, C., A. R. R. Pery, J.-M. Porcher, and R. Beaudouin. 2018. A bioenergetics model of the entire life cycle of the three-spined stickleback, *Gasterosteus aculeatus*. *Ecology of Freshwater Fish* 27:116-127.
- Moreman, J., O. Lee, M. Trznadel, A. David, T. Kudoh, and C. R. Tyler. 2017. Acute Toxicity, Teratogenic, and Estrogenic Effects of Bisphenol A and Its Alternative Replacements Bisphenol S, Bisphenol F, and Bisphenol AF in Zebrafish Embryo-Larvae. *Environmental Science & Technology* 51:12796-12805.
- Mit, C., et al., The toxicokinetics of bisphenol A and its metabolites in fish elucidated by a PBTK model. *Aquatic Toxicology*, 2022. 247.
- Mit, C., et al., Modeling acetylcholine esterase inhibition resulting from exposure to a mixture of atrazine and chlorpyrifos using a physiologically-based kinetic model in fish. *Sci Total Environ*, 2021. 773: p. 144734.