Journées Francophones de Nutrition

LYON
12 - 14 décembre 2012

CONTAMINATION ALIMENTAIRE ET EFFETS ÉPIGÉNÉTIQUES

Daniel Vaiman Institut Cochin, U1016 INSERM

Déclaration d'intérêts de Mr. Vaiman

- Activités de conseil, fonctions de gouvernance, rédaction de rapports

  Non

- Essais cliniques, autres travaux, communications de promotion

  Non

- Intérêts financiers (actions, obligations)

  Non

- Liens avec des personnes ayant des intérêts financiers ou impliquées dans la gouvernance

  Non

- Réception de dons sur une association dont je suis responsable

  Non

- Perception de fonds d'une association dont je suis responsable et qui a reçu un don

  Non

- Détention d'un brevet, rédaction d'un ouvrage utilisé par l'industrie

  Non

Du code au message

Information → Message → Action

DNA → ARNm → Protéine
ARN de structure

Epigénétique
- Méthylation de l'ADN
- Modification des histones
- Réserve de Micro-ARN

Epigénétique
- Réserve de Micro-ARN

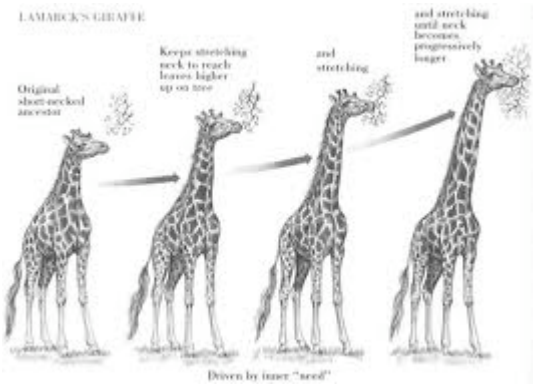
Acteurs de l'épigénétique

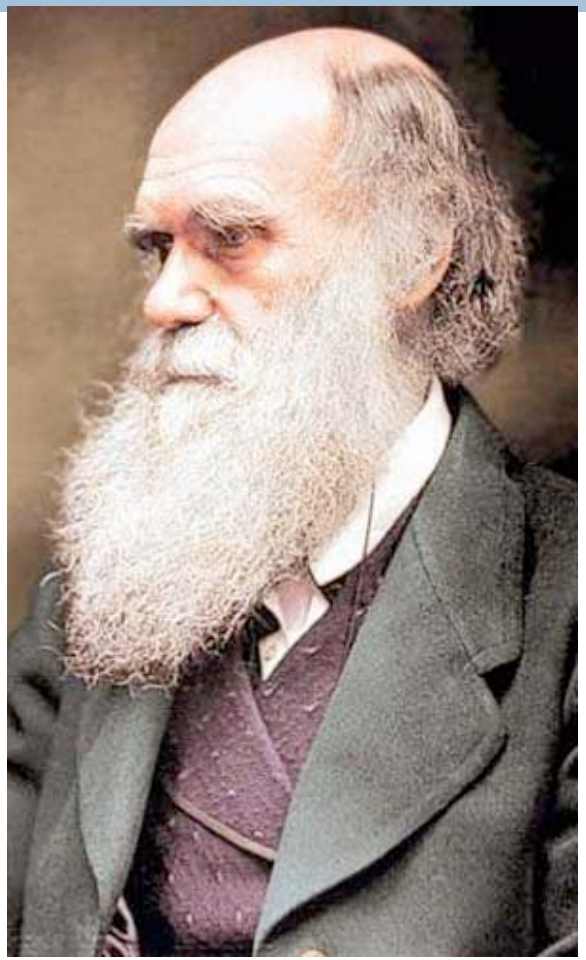
- Méthylation de l'ADN
  - DNA méthyltransférases
    - De maintien: DNMT1
    - Méthylation de novo: DNMT3A, DNMT3B
    - Régulatrice: DNMT3L
    - Sur les ARN: DNMT2
  - Déméthylases:
    - TET1, TET2, TET3
    - Gadd45
  - Cibles: îlots CpG
  - Relative stabilité
  - Corrélation fréquente entre déméthylation et expression

- Code des Histones
  - >70 modifications post-traductionnelles
  - Sur les extrêmités N-ter de H3 et H4
  - Code « mixte »
    - H3K4Me3 ouvert
    - H3K27Me3 fermé
    - H3/H4 Acet ouvert
  - Nombreuses enzymes impliquées
    - HAT
    - HDAC
    - Swi-Snf
    - P300/CEBP
    - LSD1
  - Interactions avec des processus cellulaires HIF/ hypoxie par exemple

- Synthèse et régulation par les MicroRNA
  - Peuvent cibler des centaines de gènes simultanément
  - Criblable systématiquement par « puces d'expression »
  - Quantifiables aisément par q-PCR
  - Identification des cibles possible
  - Acteurs de la régulation
    - Drosha
    - Dicer
    - Complexe RISC
    - Argonaute

L'épigénétique est elle un mode d'évolution lamarckien?

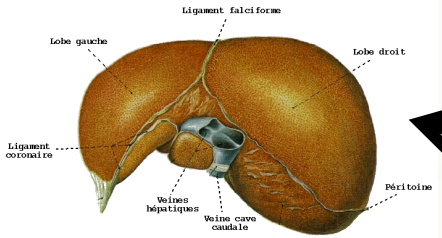


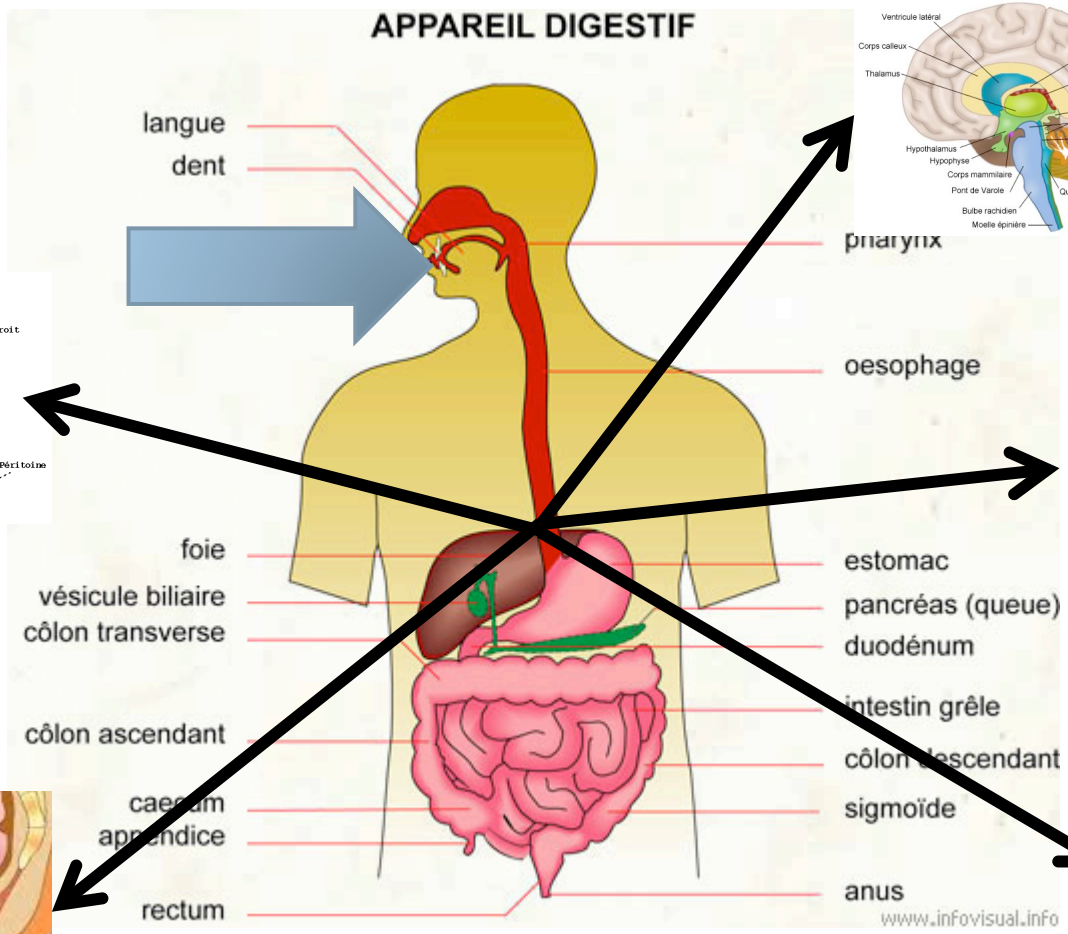


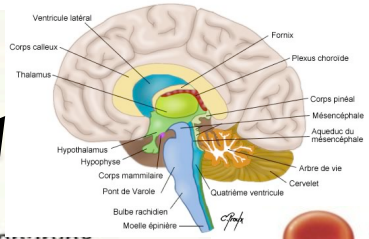
Le « vrai » apport de l'épigénétique à l'évolution du vivant

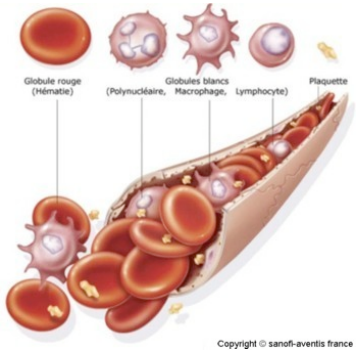
Cyprinodon salinus salinus

Cibles de contaminations éventuelles par la nutrition

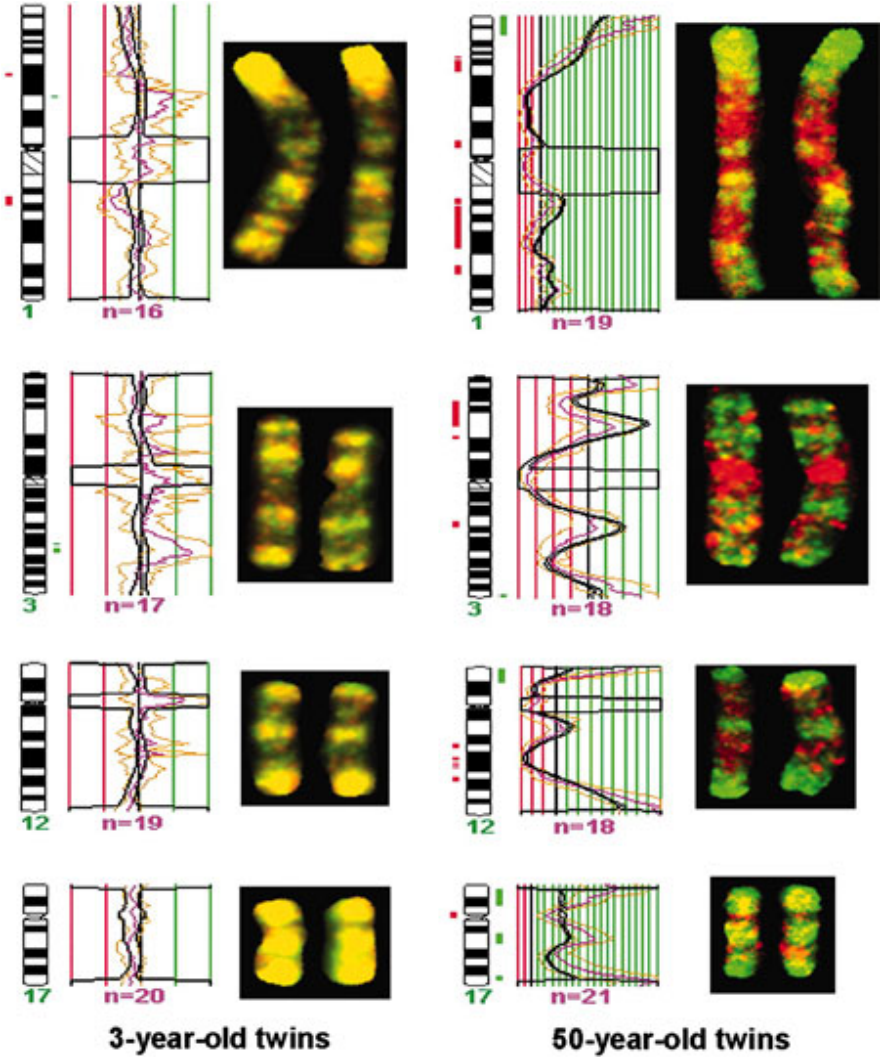








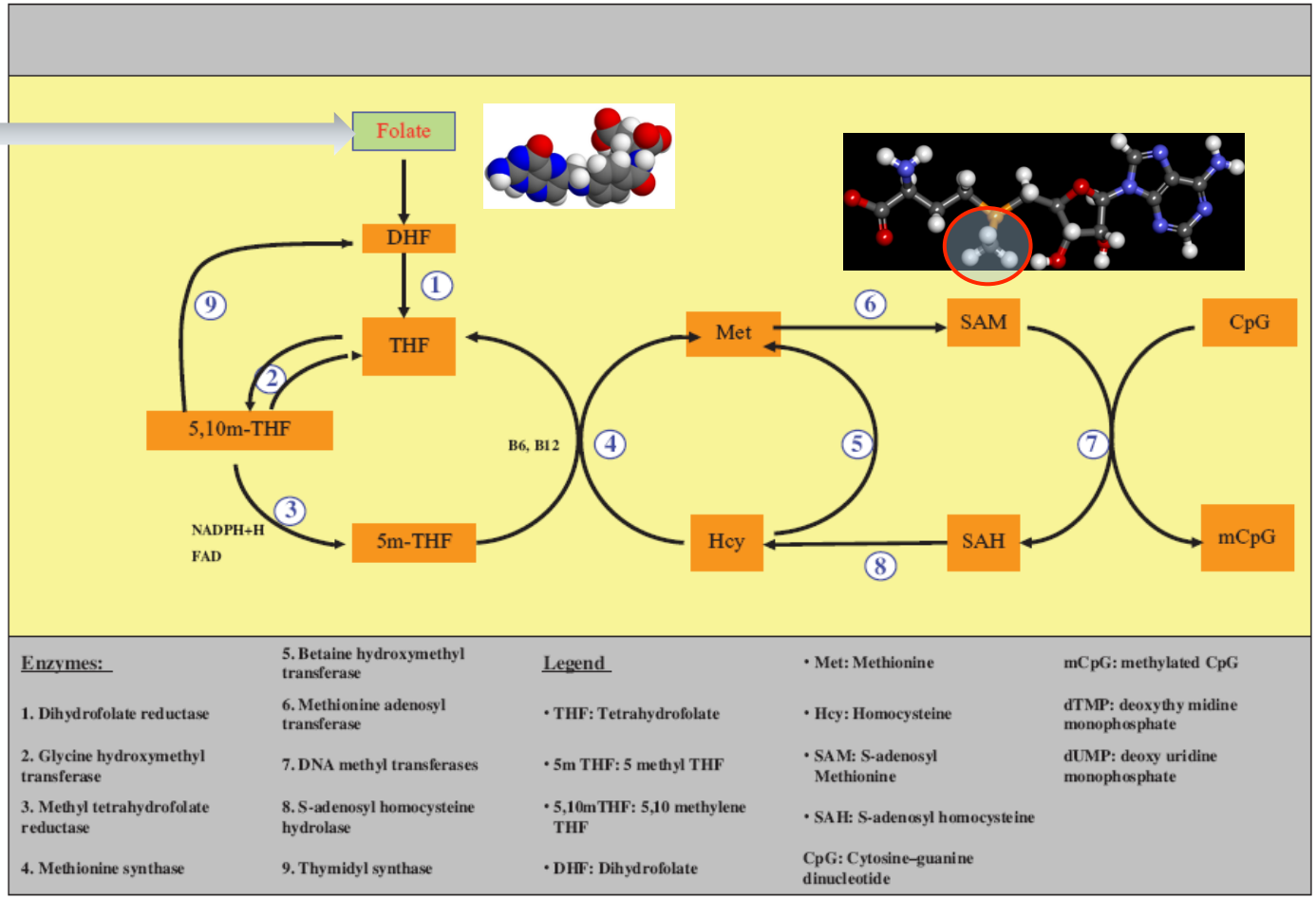
Mise en évidence des modifications épigénétiques au cours de la vie et des expositions de l'individu



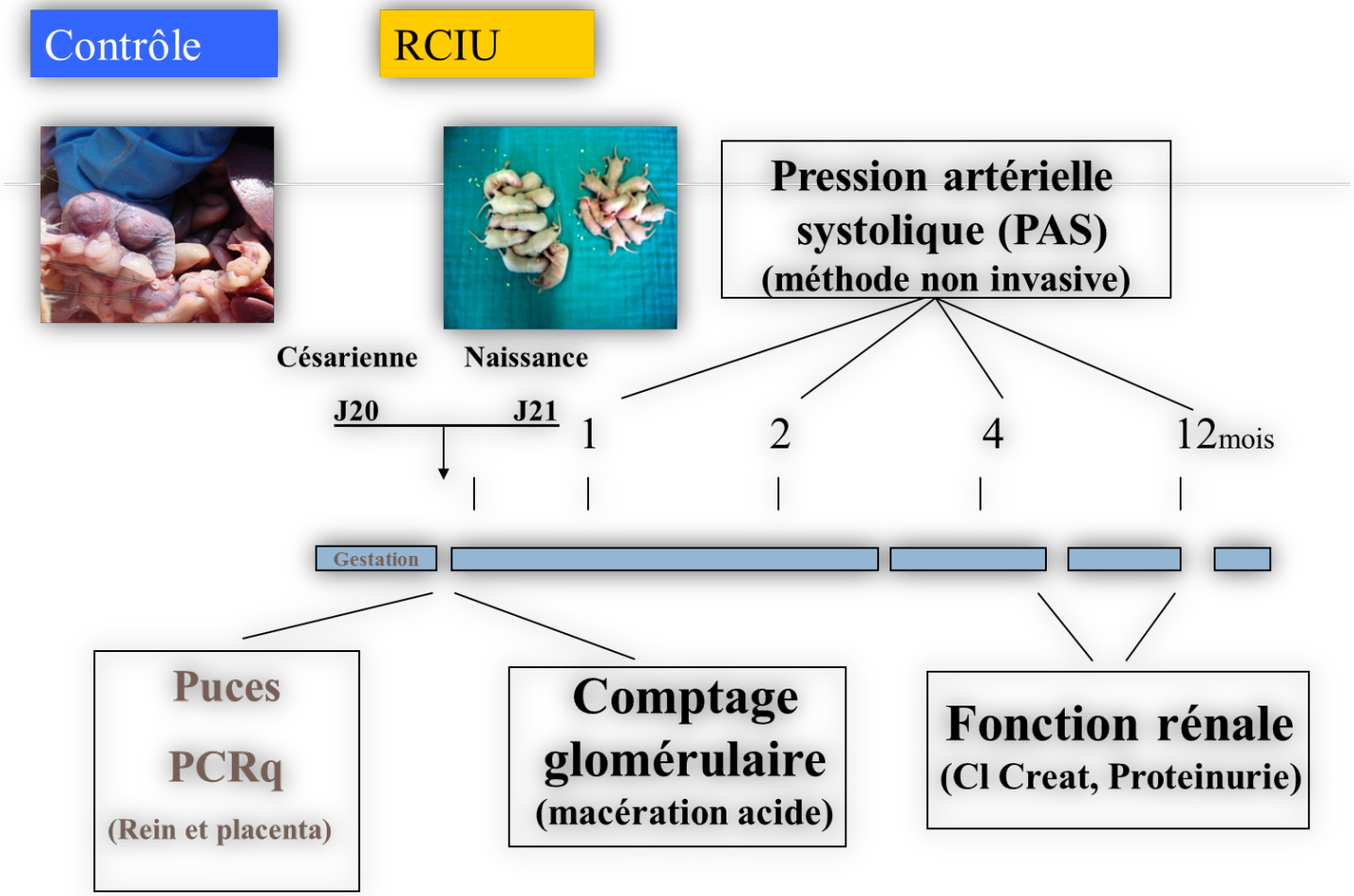
(Fraga, 2005)

Alimentation et épigénétique: Origine des résidus méthylés

- Plantes feuillues (épinards, asperges, laitue)
- Pois, lentilles, haricots
- Jaune d'œuf
- Levure de boulanger
- Céréales de petit déjeuner
- Foie
- Rognons



Déficit en protéines: induction du RCIU chez le rat



Journal of Pathology
J Pathol 2007; **213**: 337–346
Published online 24 September 2007 in Wiley InterScience
(www.interscience.wiley.com) **DOI:** 10.1002/path.2233

Original Paper

A hierarchical analysis of transcriptome alterations in intrauterine growth restriction (IUGR) reveals common pathophysiological pathways in mammals

C Buffat,[1] F Mondon,[2] V Rigourd,[2,5] F Boubred,[3] B Bessières,[5] L Fayol,[3] J-M Feuerstein,[10] M Gamerre,[4] H Jammes,[2,6] R Rebourcet,[2] F Miralles,[2] B Courbières[4], A Basire,[7] F Dignat-Georges,[7] B Carbonne,[8] U Simeoni[3] and D Vaiman[2,9]*

[1]*Laboratoire de Biochimie et de Biologie Moléculaire, Hôpital La Conception, AP-HM, Marseille/Upres EA 2193 Faculté de Médecine, Marseille, France*
[2]*Département de Génétique et Développement, Institut Cochin, Institut National de la Santé et de la Recherche Médicale U567, Centre National de la Recherche Scientifique, Unité Mixte de Recherche 8104 and Faculté de Médecine René Descartes, Université Paris V UM 3, 75014 Paris, France*
[3]*Service de Médecine Néonatale, Hôpital La Conception, AP-HM, Marseille/Upres EA 2193 Faculté de Médecine, Marseille, France*
[4]*Service de Gynecologie-Obstétrique/Maternité, Hôpital La Conception (AP-HM), Marseille, France*
[5]*Institut de Puériculture et de Périnatalogie, 26 Boulevard Brune, 75014 Paris, France*
[6]*Département PHASE, INRA, 78350 Jouy-en-Josas, France*
[7]*Laboratoire d'Hématologie et d'Immunologie, INSERM UMR-S 608, UFR de Pharmacie, Marseille, France*
[8]*Hopital St Antoine, Assistance Publique Hopitaux de Paris, Universite Paris VI, Service de Gynecologie Obstetrique, 184 Rue du Faubourg St Antoine, Paris, France*
[9]*Animal Genetics Department, INRA, 78350 Jouy-en-Josas, France*
[10]*CFREMC Centre de Formation et de Recherche Expérimental Medico-Chirurgicale, Faculté de Médecine Marseille, France*

Altération de l'expression des enzymes modulant l'épigénétique dans le placenta

0,79977257	Hdac5
0,9143411	Hdac11
0,99349101	Hdac2
1,06352919	Hdac1
1,07599886	Hdac7a
1,09805306	Hdac10
1,11318655	Hdac10
1,24995285	Hdac3
1,29561792	Hdac1
1,30157219	Hdac1
1,30421398	Hdac6
1,36222241	Hdac3
1,64613216	Hdac8
2,22636627	Hdac4

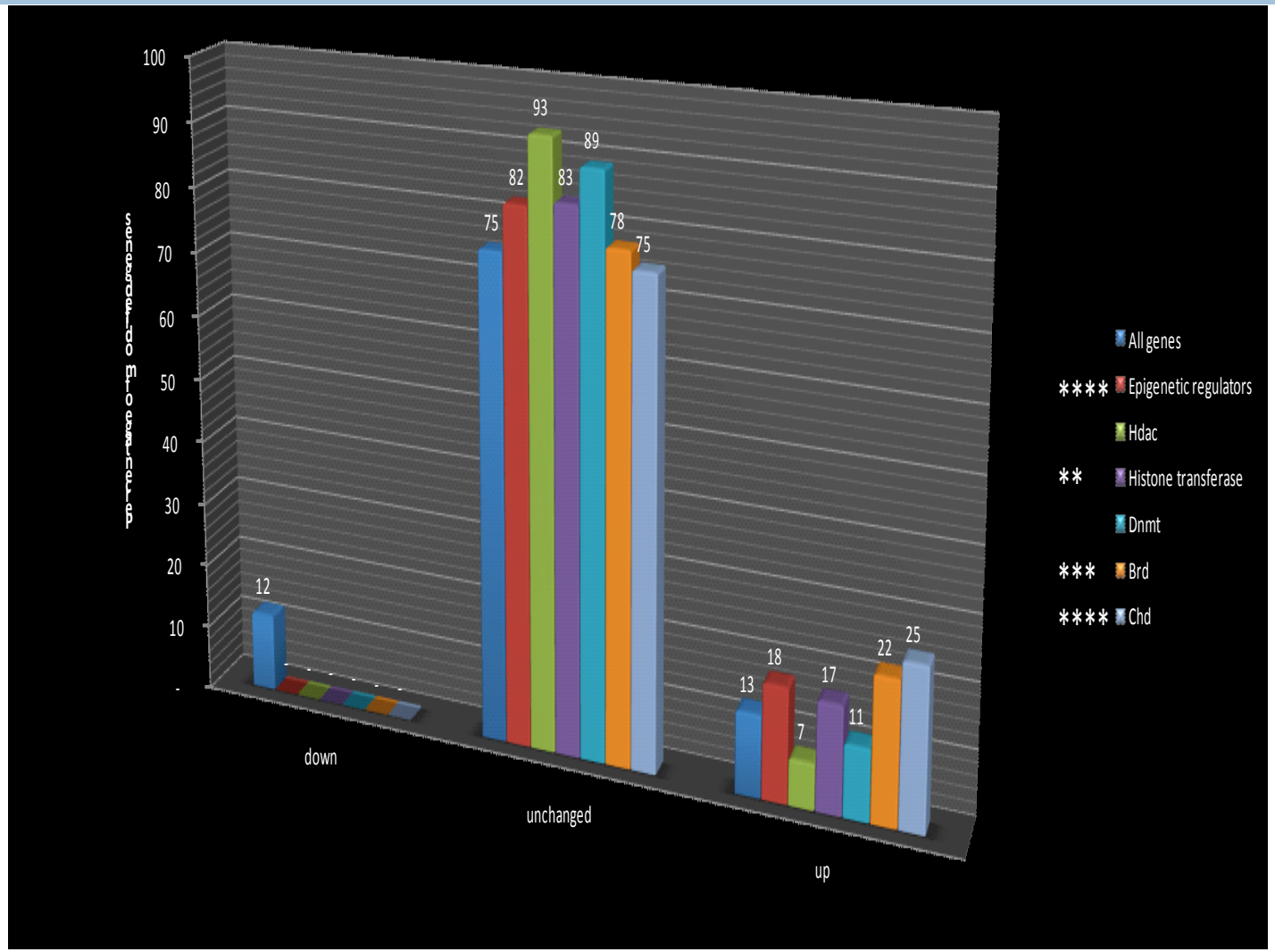
0,83492436	Histone H3-K9 methyltransferase 4
0,99160431	euchromatic histone lysine N-methyltransferase 2
1,42330095	DOT1-like, histone H3 methyltransferase
1,45592865	euchromatic histone methyltransferase 1
1,4789988	MYST histone acetyltransferase 2
1,59287017	Histone H3-K4 methyltransferase set7
1,67220894	MYST histone acetyltransferase 1
1,68655933	histone aminotransferase 1
1,72372106	MYST histone acetyltransferase 3
1,91202715	MYST histone acetyltransferase4
2,56026084	MYST histone acetyltransferase 2
4,08555944	Histone H3-K9 methyltransferase 4, SET domain bifurcated 1

0,67935397	Dnmt3l
0,95839921	Dnmt1
0,96289725	Dnmt3b
1,14802614	Dnmt3a
1,4408244	Dnmt3a
1,73109696	Dnmt2
1,77928896	Dnmt3a
2,57796907	Dnmt3a

0,54758565	bromodomain, testis-specific
1,06589669	bromodomain, testis-specific
1,15065548	Brd2
1,19406619	bromodomain and PHD finger containing, 3
1,27688176	PHD finger-containing protein 1 isoform 1
1,28455543	Brd3
1,28523023	Brd7
1,30188613	Baz1b
1,50784976	Brd9
1,6151815	Brd8
1,67315913	Brd1
1,78752701	Brwd1_predicted
1,95302834	Brd4
1,97206337	Baz2a
2,07772582	Baz1a
2,84619889	bromodomain and WD repeat domain containing 2
3,24857362	Brwd3
4,68515555	Baz2b

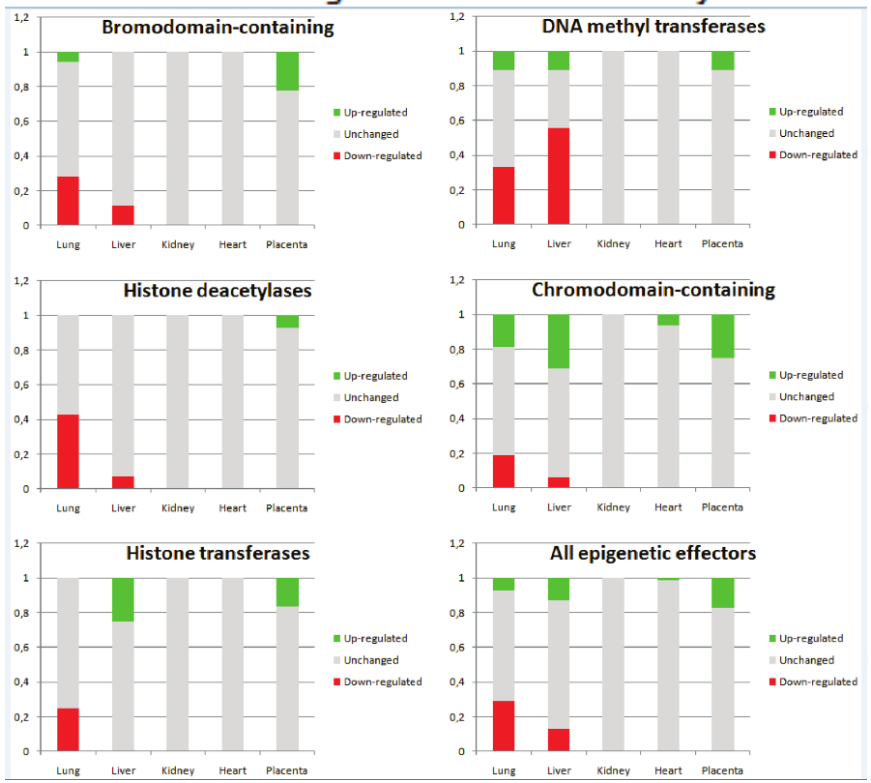
0,76035812	chromodomain-helicase-DNA-binding protein
0,84519068	Chd3
0,99226286	Chd6
1,03723371	Cdy1
1,27876621	Cdyl2
1,36289947	Cdyl2
1,36680292	Chd5
1,44126227	Chd1l
1,52835663	Chd4
1,54603363	Chd8
1,93978918	Chd7
2,14137885	testis-specific chromodomain Y-like protein
2,88138927	Chd2
7,08871079	Chd8
7,98937914	Chd1

Les modulateurs épigénétiques sont régulés différemment des autres gènes dans le placenta RCIU



L'intensité des dérégulations des modulateurs épigénétique est organe-spécifique

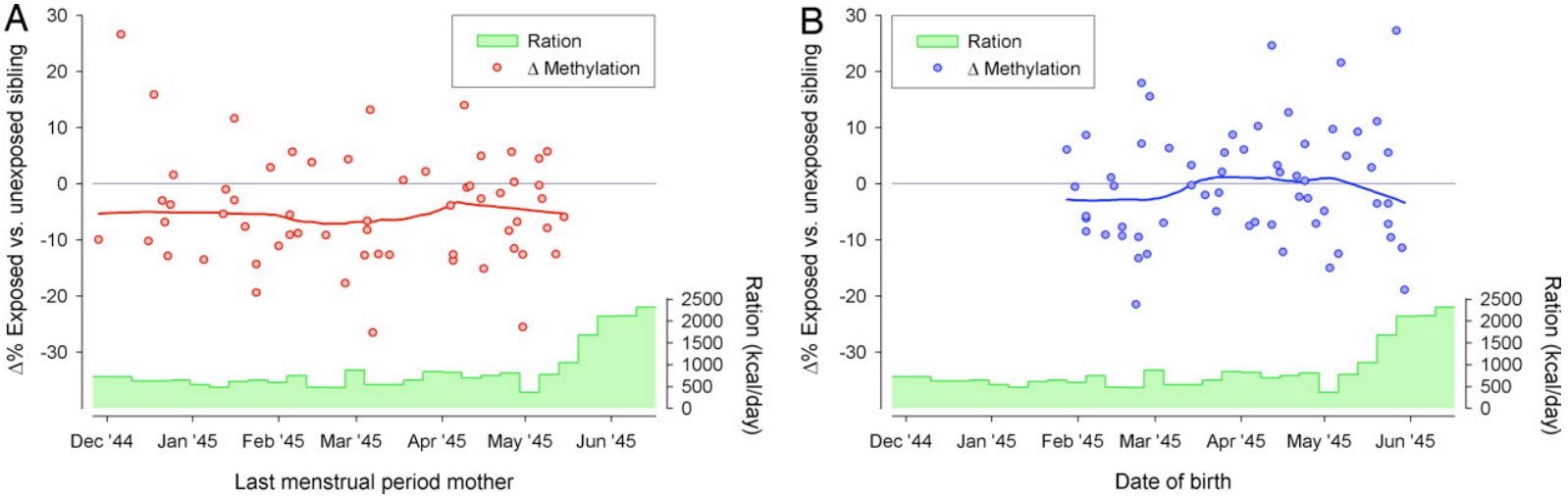
Figure 3. Genes modulating epigenetic modifications of the chromatin are differentially altered according to the tissue under scrutiny.



Valman D, Gascoin-Lachambre G, Boubred F, Mondon F, et al. (2011) The Intensity of IUGR-Induced Transcriptome Deregulations Is Inversely Correlated with the Onset of Organ Function In a Rat Model. PLoS ONE 6(6): e21222. doi:10.1371/journal.pone.0021222
http://www.plosone.org/article/info:doi/10.1371/journal.pone.0021222

PLoS one

Méthylation de l'ICR du gène IGF2 suite à la famine hollandaise de 1944-1945



Heijmans B T et al. PNAS 2008;105:17046-17049

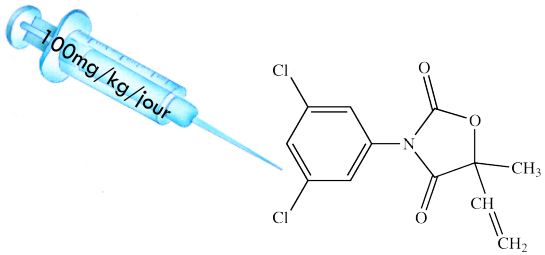
Effets de contaminants alimentaires sur la gamétogenèse

Epigenetic Transgenerational Actions of Endocrine Disruptors and Male Fertility

Matthew D. Anway, Andrea S. Cupp,* Mehmet Uzumcu,† Michael K. Skinner‡

Transgenerational effects of environmental toxins require either a chromosomal or epigenetic alteration in the germ line. Transient exposure of a gestating female rat during the period of gonadal sex determination to the endocrine disruptors vinclozolin (an antiandrogenic compound) or methoxychlor (an estrogenic compound) induced an adult phenotype in the F_1 generation of decreased spermatogenic capacity (cell number and viability) and increased incidence of male infertility. These effects were transferred through the male germ line to nearly all males of all subsequent generations examined (that is, F_1 to F_4). The effects on reproduction correlate with altered DNA methylation patterns in the germ line. The ability of an environmental factor (for example, endocrine disruptor) to reprogram the germ line and to promote a transgenerational disease state has significant implications for evolutionary biology and disease etiology.

3 JUNE 2005 VOL 308 SCIENCE www.sciencemag.org



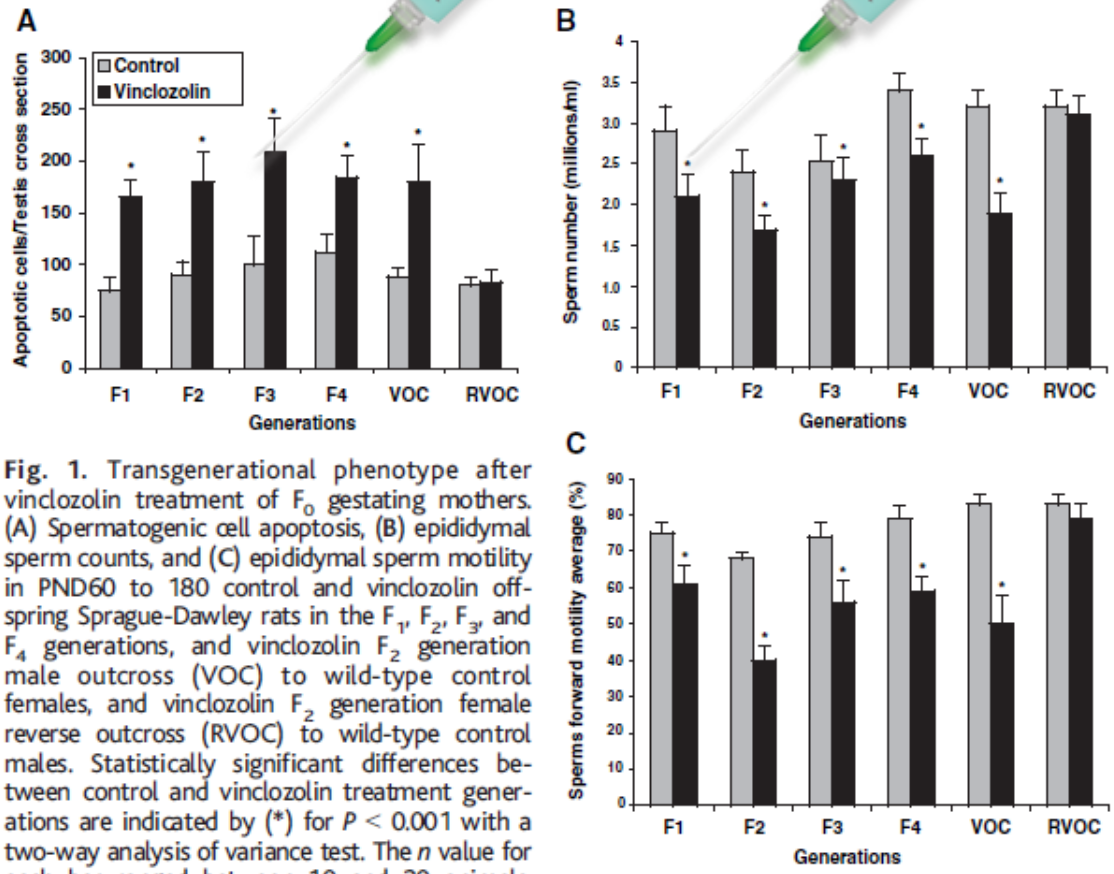


Fig. 1. Transgenerational phenotype after vinclozolin treatment of F_0 gestating mothers. (A) Spermatogenic cell apoptosis, (B) epididymal sperm counts, and (C) epididymal sperm motility in PND60 to 180 control and vinclozolin offspring Sprague-Dawley rats in the F_1, F_2, F_3, and F_4 generations, and vinclozolin F_2 generation male outcross (VOC) to wild-type control females, and vinclozolin F_2 generation female reverse outcross (RVOC) to wild-type control males. Statistically significant differences between control and vinclozolin treatment generations are indicated by (*) for $P < 0.001$ with a two-way analysis of variance test. The n value for each bar ranged between 10 and 30 animals. Detailed methods are provided in SOM.

Histologie testiculaire

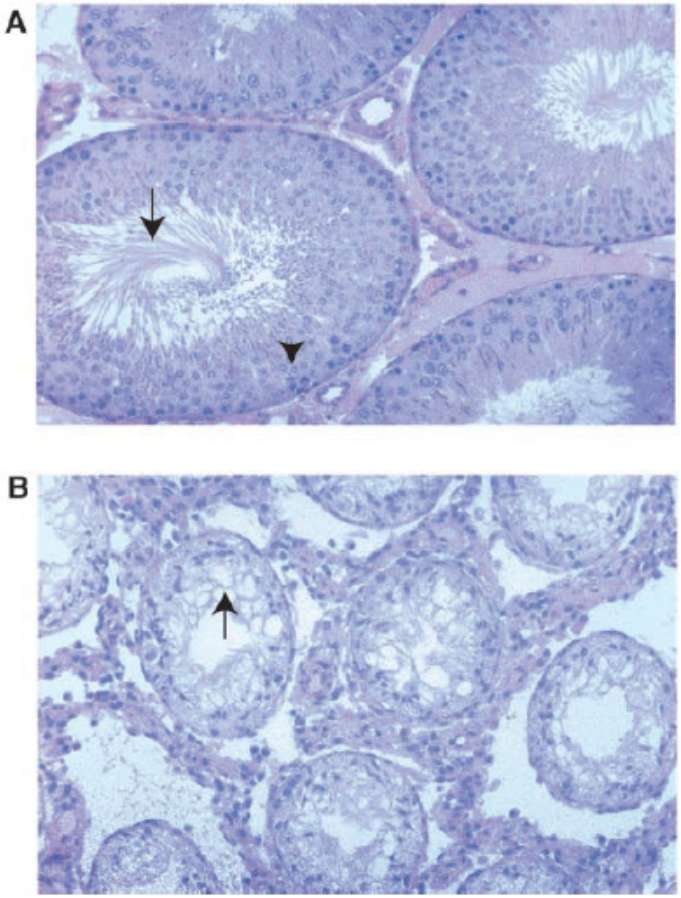


Fig. 2. Testis histology from control (A) and vinclozolin treatment (B) 100-day-old F_3 generation animals, ×200 magnification. The vinclozolin F_3 generation male is a representative infertile male. Arrow in (A) identifies the tails of elongate spermatozoa in the seminiferous tubule lumen; arrowhead labels spermatocytes in the tubule epithelial layer. Arrow in (B) identifies the lack of germ cells in the seminiferous tubule. Methods are provided in SOM.

Que donnent des expositions « réalistes »?

- Anomalies du tractus génital d'animaux sauvages
- Incidence accrue des cancers testiculaires, de la cryptorchidie et des hypospadiass au cours des dernières décennies
- Décroissance continue de la quantité/qualité du sperme
- On sait que des produits chimiques ont des effets délétères sur les cellules germinales et le tractus génital

Des facteurs chimiques environnementaux 'hormone-like' ou 'anti-hormone-like'

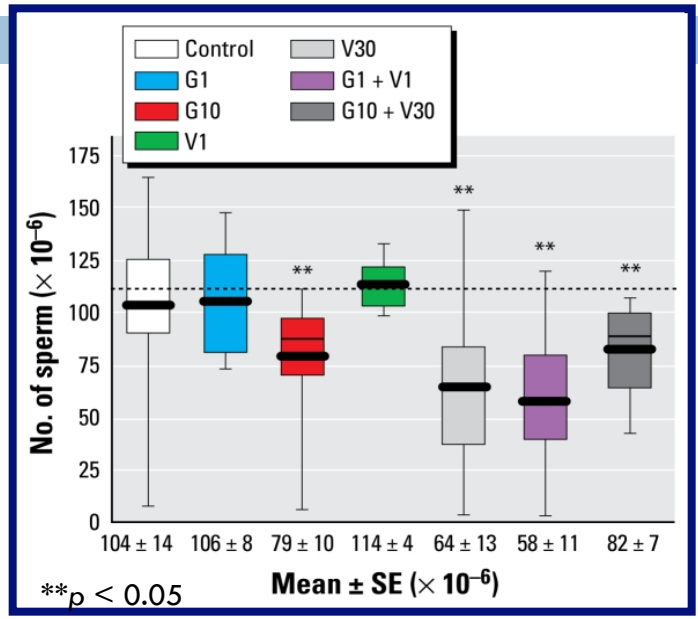
Perturbateurs endocriniens

Exposition combinée par l'alimentation

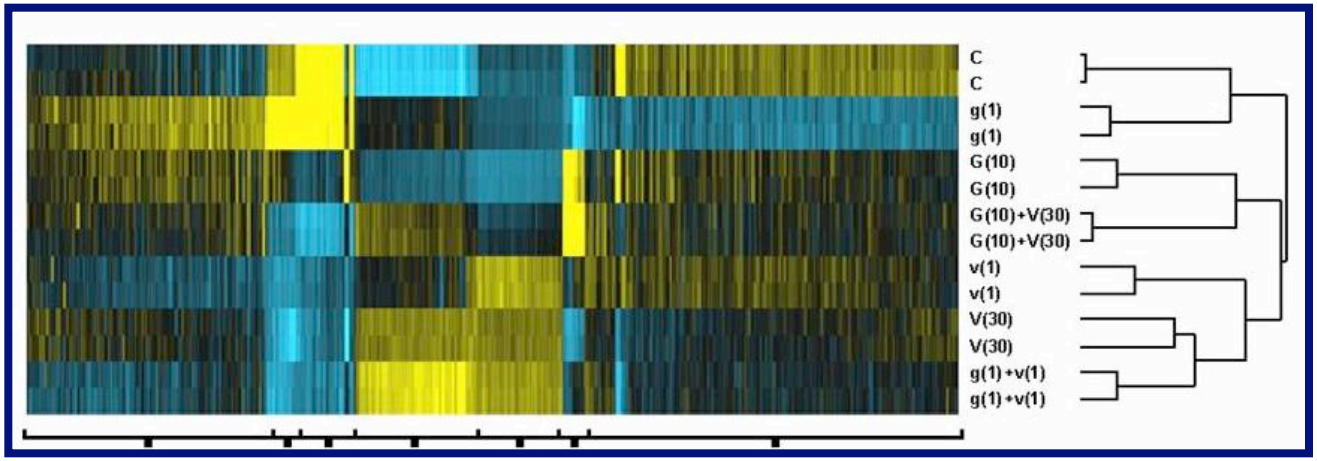
↘Production spermatique; ↘ Motilité du sperme; altération du mouvement des spermatozoïdes

Anomalies de la condensation chromatinienne(*Auger et al., 2004*)

Altérations de l'expression de protéines spermatiques(*Auger et al., Tox Sci. 2010*):
Métabolisme énergétique, morphogenèse de la tête, capacitation

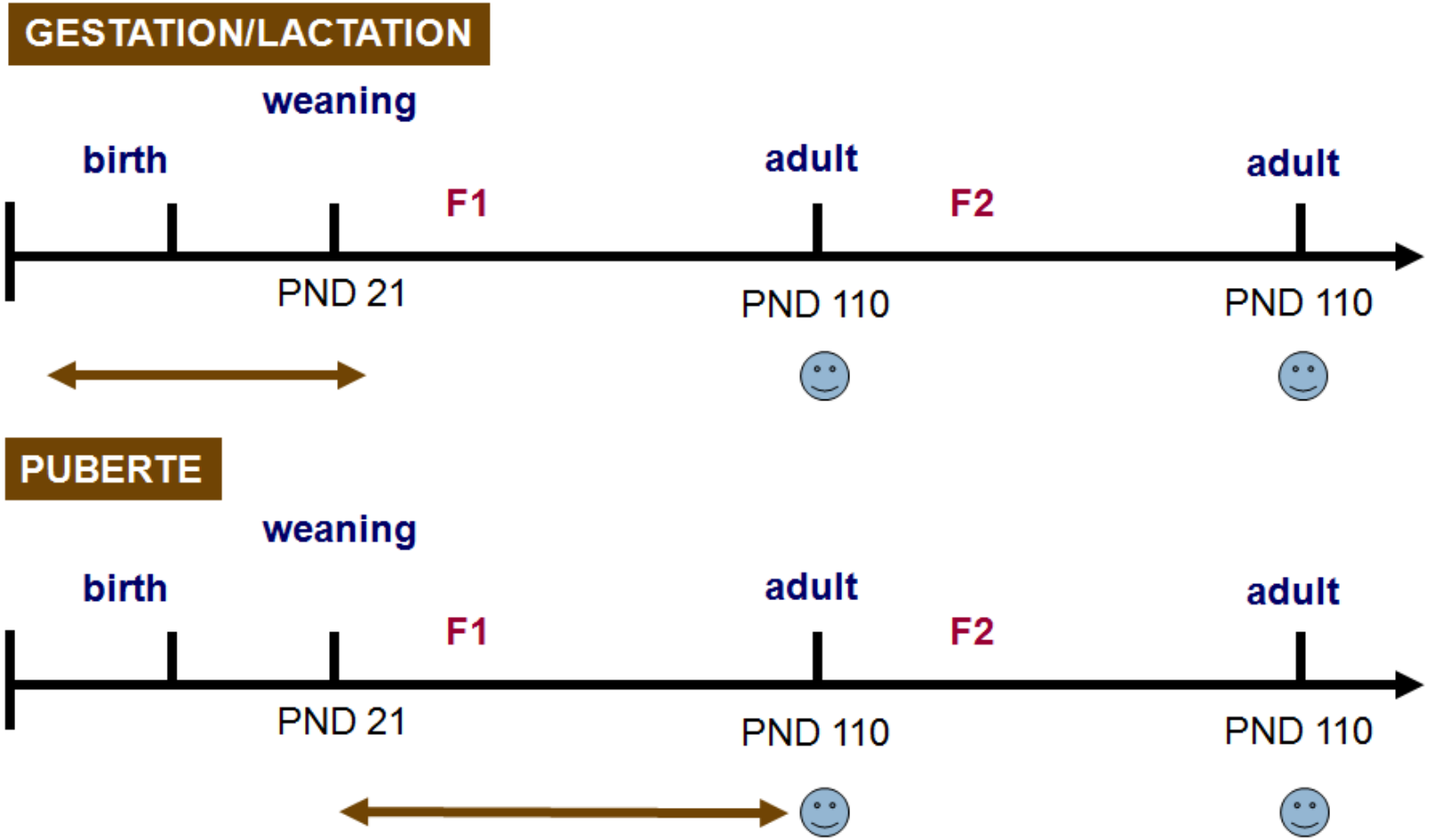


Transcriptome testiculaire:
Analyse hiérarchique non-supervisée *(Eustache et al., Env Health Perspect. 2009)*



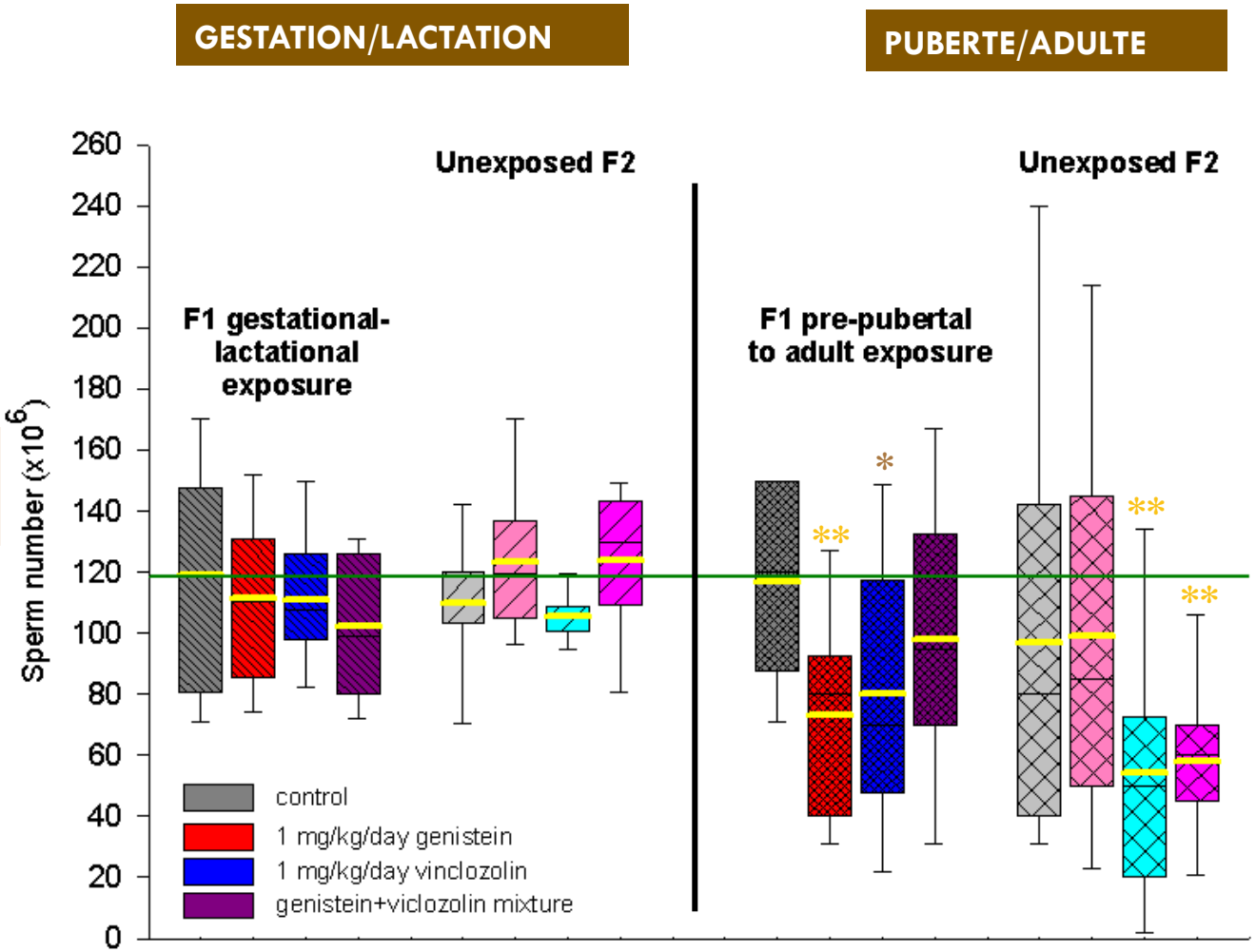
Le modèle expérimental raffiné en 2010

Exposition alimentaire Gestation/Lactation ou Puberté/Adulte (modèle Rat)
Génisteine et Vinclozoline à faibles doses en combinaison
Effets analysé par une équipe pluridisciplinaire (dents, os, glande salivaire, glande mammaire, testicule)



Effets transgénérationnels de l'exposition

Réserve épidydymaire



** $p < 0.01$; * $p < 0.05$ n = 10 rats/group

Autres impacts

Le test de Manning et la longueur des doigts

Bases moléculaires du test de Manning *(Zheng et Cohn, PNAS 2011)*

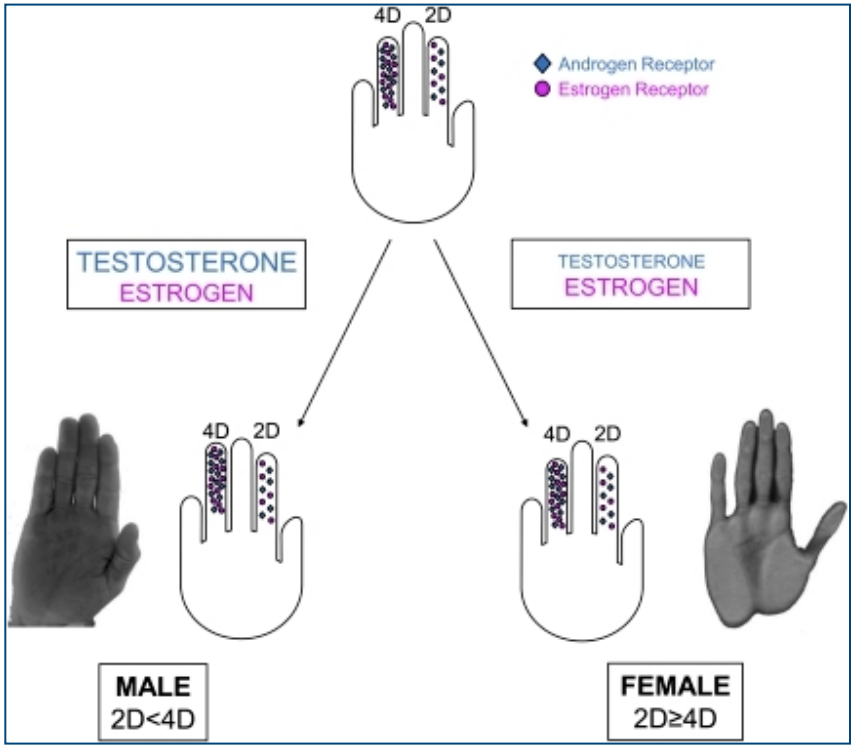
• AR et ER sont exprimés sur D2 et D4 avec D4 >>> D2 pour AR

•Prolifération des chondrocytes (SOX9) *in utero* :
→ stimulated by androgens
→ inhibited by estrogens

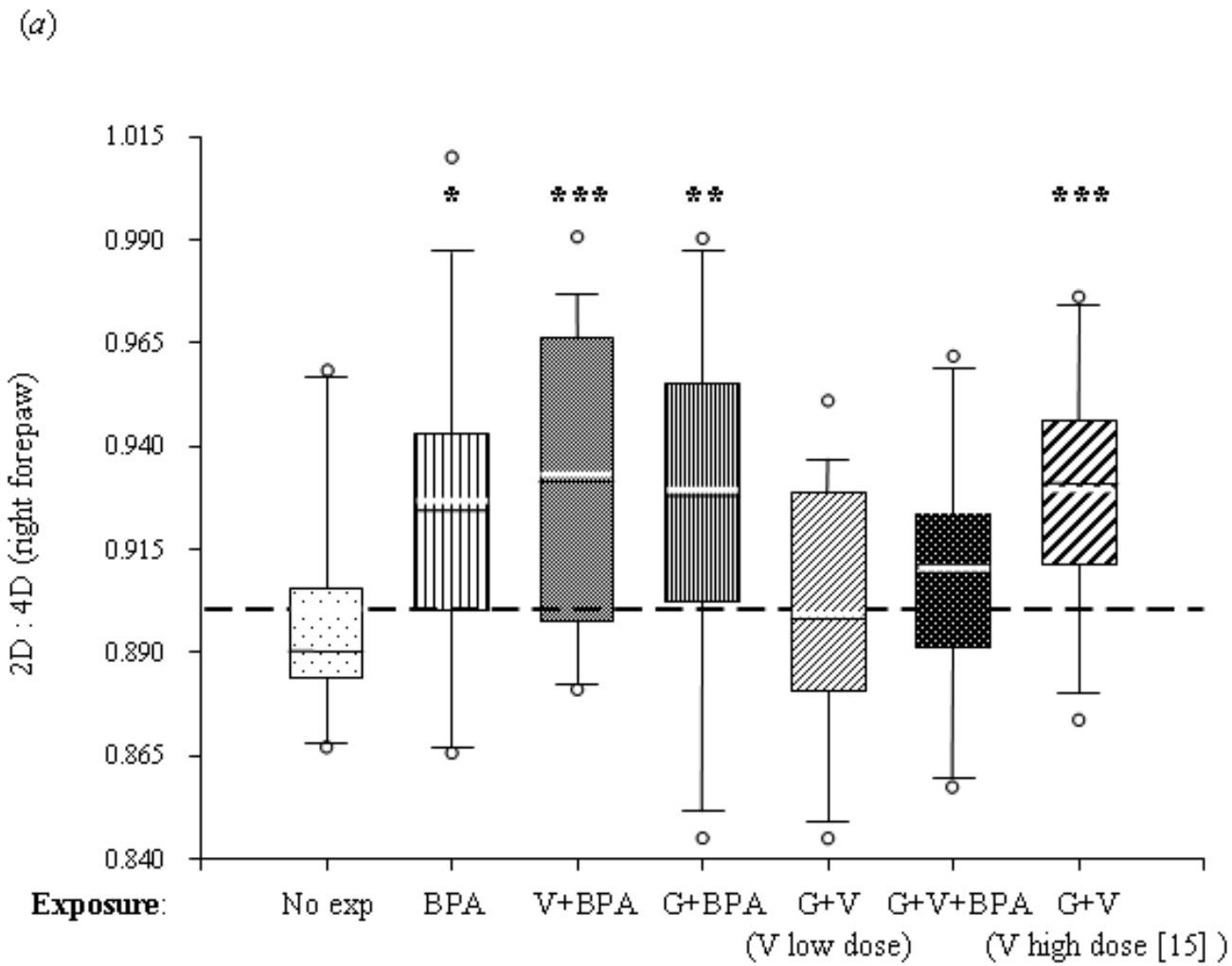
• Des modifications prénatales induisent des variations de l'expression de ces récepteurs ainsi que de leur ratio:

Approches de l'étude:

- *inactivation de AR, ER*
- *antagonistes (flutamide et fulvestrant)*
- *injection de DHT, estradiol*

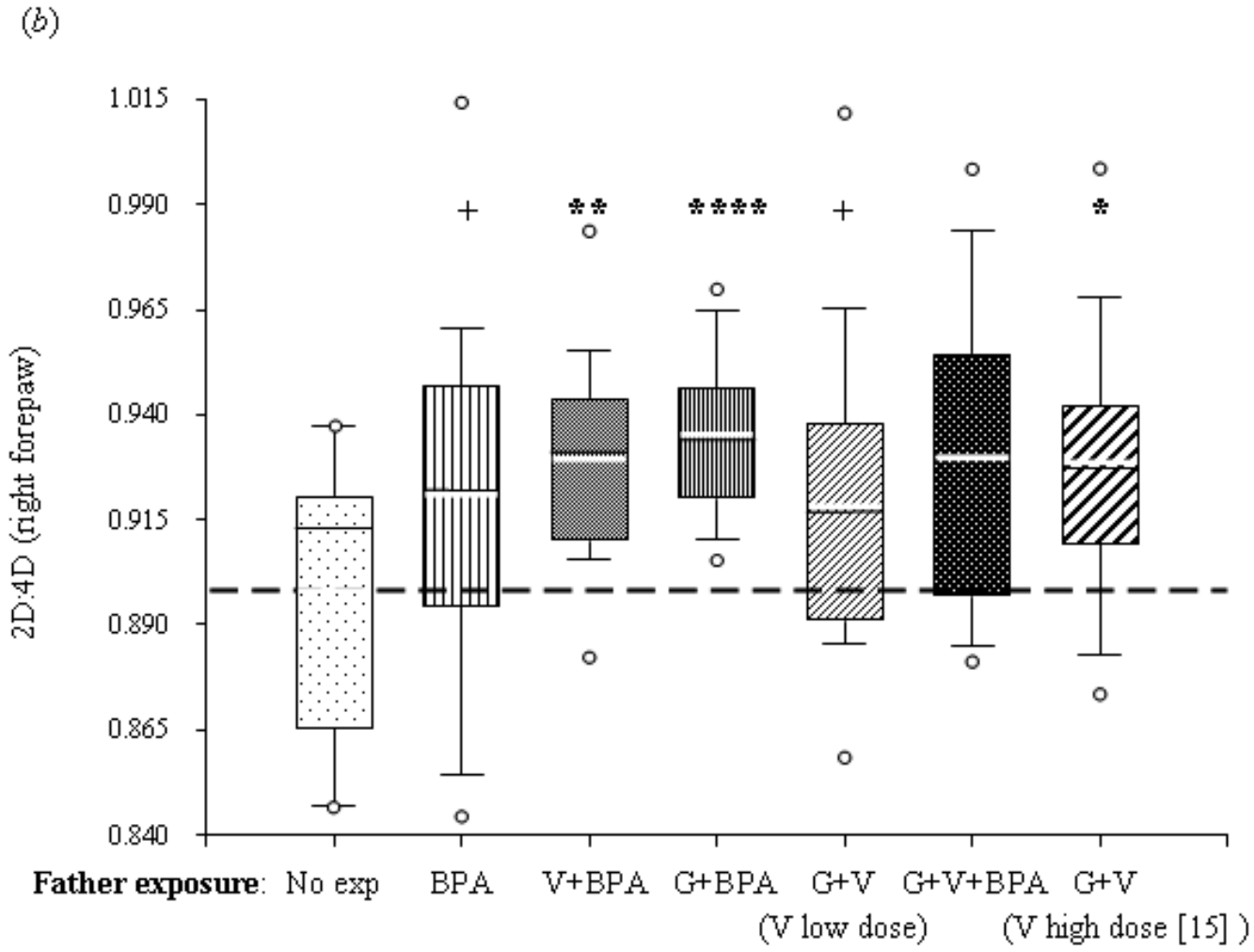


Results 2D:4D exposition en F1



Eustache et al, submitted

Results 2D:4D F2 de pères exposés



Eustache et al, submitted

Les mécanismes ???

Merci pour votre attention…