



HAL
open science

Toxicogénomique des perturbateurs endocriniens de la reproduction chez la truite arc-en-ciel

Gilles Monod, Daniel Baron, Julien Bobe, Alexis Fostier, Yann Guiguen, Emilie Haon-Laportes, Florence Le Gac, Jérôme Montfort, Hélène Rime

► **To cite this version:**

Gilles Monod, Daniel Baron, Julien Bobe, Alexis Fostier, Yann Guiguen, et al.. Toxicogénomique des perturbateurs endocriniens de la reproduction chez la truite arc-en-ciel. Colloque de restitution du Programme National d'Ecotoxicologie. PNETOX, Ministère de l'Ecologie, de l'Energie, du Développement durable et de l'Aménagement du Territoire. FRA., Oct 2008, Lille, France. hal-02756581

HAL Id: hal-02756581

<https://hal.inrae.fr/hal-02756581>

Submitted on 3 Jun 2020

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

Toxicogénomique des perturbateurs endocriniens de la reproduction chez la truite arc-en-ciel

Partenaires

• INRA, SCRIBE :

Daniel Baron, Julien Bobe, Alexis Fostier, Yann Guiguen, Emille Haon-Lasportes, Florence Le Gac, Jérôme Montfort, Hélène Rime

Coordinateur

• Gilles Monod

INRA, SCRIBE
Campus de Beaulieu
35042 Rennes
gilles.monod@rennes.inra.fr

Mots clés

Toxicogénomique,
Puce à ADN, Truite,
Reproduction,
Perturbateur endocrinien

➔ Objectifs

Il est difficile d'authentifier l'origine endocrinienne des perturbations affectant les performances reproductrices via la seule analyse de critères fonctionnels. Or, le mode d'action des hormones repose sur la modulation de réseaux de gènes dans les cellules cibles. Par conséquent, l'analyse de l'expression des gènes de ces cellules apparaît comme une approche *a priori* intéressante pour caractériser des biomarqueurs spécifiques de perturbations endocriniennes. La toxicogénomique vise à caractériser, [1] des gènes ou des groupes de gènes dont le niveau de transcription rend compte d'une exposition à un toxique, [2] comment la modulation de la transcription du génome découlant de l'exposition à des polluants chimiques peut déboucher sur des effets toxicologiques fonctionnels.

En 2001, lors de la conception de ce projet, la démarche de type "gène candidat" (quelques gènes marqueurs choisis *a priori*) représentait l'approche classiquement mise en œuvre dans les travaux relatifs à l'étude des bases moléculaires de l'effet des perturbateurs endocriniens (par exemple, activation des gènes de la vitellogénine et du récepteur aux œstrogènes par des xénoestrogènes chez différentes espèces de poissons). Mais une approche complémentaire était en développement : l'identification de tous les transcrits (ARNm) d'un type cellulaire ou d'un tissu donné afin de définir le répertoire des gènes exprimés (transcriptome). C'est cette approche sans *a priori*, à haut débit, basée sur l'utilisation de "puces à ADN" (micro-réseaux d'ADN complémentaires des ARNm recherchés) qui a été mise en œuvre dans le cadre de ce projet, avec l'appui du programme AGENAE (Analyse des GENomes des Animaux d'Élevage) de l'INRA, et avec la truite comme poisson modèle.

➔ Résultats

Les expériences ont porté sur la différenciation sexuelle et 2 phases précises de la gamétogenèse : l'initiation de la spermatogenèse chez le mâle, et la maturation ovocytaire chez la femelle. Ces processus sont sous contrôle endocrinien étroit. La démarche générale suivie s'est décomposée en 3 étapes : [1] Réalisation d'expérimentations d'exposition à des xénobiotiques, *in vivo* ou *in vitro*, visant à révéler des effets phénotypiques et à récolter des populations de transcrits (ARN messagers) représentatifs de conditions "témoins" et de conditions "traitées" ; [2] Analyse des transcrits ; [3] Mise en relation des profils d'expression génique et des effets phénotypiques constatés.

Effet "gonadotropin-like" de fongicides "azoles" vis-à-vis de la maturation ovocytaire *in vitro*

À l'issue de la vitellogenèse, la maturation ovocytaire est déclenchée par les gonadotropines (hormones hypophysaires). Nos résultats montrent que des matières actives comme le prochloraz, l'époxyconazole, et à un degré moindre l'imazalil, potentialisent très fortement l'activité des gonadotropines. De plus, le prochloraz et l'époxyconazole peuvent, à eux seuls, induire la maturation ovocytaire. Ces travaux représentent la première démonstration d'un effet "gonadotropin-like" par des xénobiotiques et suggèrent l'existence d'un type de perturbation endocrinienne qui n'avait pas encore été décrit.

Effet d'un xéno-androgène sur le transcriptome gonadique en cours de différenciation sexuelle

Un traitement de juvéniles femelles à la 11bêta-hydroxyandrostenedione (11bOHD4) aboutit à une transdifférenciation testiculaire des gonades (développement de gonades mâles au lieu de gonades femelles). Cependant ce traitement n'induit pas un profil d'expression génique comparable à celui observé lors de la différenciation testiculaire naturelle (chez les mâles témoins). Plusieurs groupes de gènes co-exprimés signent ainsi cette différence entre trans-différenciation testiculaire induite par la 11bOHD4 et différenciation testiculaire naturelle. L'exposition à un xéno-androgène induit donc une empreinte transcriptomique singulière.

Effet d'un xéno-œstrogène et d'un xéno-androgène sur le transcriptome testiculaire

De nombreux gènes sont également perturbés dans la gonade mâle prépubère lors d'une exposition *in vivo* à un œstrogène (œstradiol) ou à un androgène (testostérone). Cette dérégulation coïncide avec des anomalies de la fonction testiculaire : blocage (réversible) de la spermatogénèse dans les gonades exposées à l'œstradiol ; anomalies histologiques dans les gonades exposées à la testostérone.

➤ Perspectives scientifiques identifiées

À l'heure du bilan, l'idée force du programme initial, c'est-à-dire mettre en œuvre des protocoles à partir desquels il serait possible de confronter la réponse du transcriptome à celles de niveaux d'organisation supérieurs, est confortée. En effet, il est extrêmement important de pouvoir aborder l'analyse du transcriptome, et l'étude de sa réponse aux toxiques, dans le cadre de processus biologiques dont le déroulement est bien connu et maîtrisé en conditions expérimentales. Au plan technologique, la PCR quantitative pourrait à l'avenir rester la technique utilisée pour le suivi de quelques dizaines de gènes. Par contre, les puces de haute densité (plusieurs milliers de gènes) seront sans doute l'outil incontournable pour réaliser des travaux sur le mécanisme d'action des perturbateurs endocriniens. La simplification probable des techniques d'utilisation des puces, associée au développement de modèles d'analyse des données de plus en plus accessibles et performants, devraient permettre de progresser rapidement dans ce domaine.

➤ Actions de transfert et perspectives pratiques

Les travaux basés sur l'utilisation de "puces à ADN" dans les domaines de la biologie cellulaire, de la pathologie, de la pharmacologie, de la toxicologie, de l'agronomie (en particulier vis-à-vis de modèles végétaux), se sont accumulés ces dernières années. Par contre, en écotoxicologie, peu de résultats originaux ont été publiés. En fait,

si la toxicogénomique appliquée à la santé humaine, en raison du fond de connaissances important, et de la qualité élevée des outils disponibles, donne l'impression d'avancer à grands pas, la toxicogénomique appliquée à la santé de l'environnement ("écotoxicogénomique") est largement tributaire de la relative méconnaissance des bases moléculaires des modèles biologiques auxquels elle s'adresse, et du caractère "prototypique" des outils avec lesquels elle fait ses premières armes.

En écotoxicologie aquatique, il est probable qu'il faudra encore des développements importants et de nombreuses études de validation pour que cette approche puisse se justifier comme moyen de pronostic (prévision des effets) sur des individus de poissons sauvages. En effet, dans ce contexte, la versatilité du transcriptome et l'impossibilité de connaître avec précision le degré d'homogénéité des échantillons récoltés (âge, état nutritionnel, etc.), sont des sources de bruit de fond a priori très pénalisantes. De manière plus optimiste, on peut penser que, en tant qu'outil de mise en évidence d'une exposition à telle ou telle xéno(anti)hormone, l'utilisation de puces à ADN pourra être réalisée à moyen terme. Mais il reste à caractériser, en conditions expérimentales, des signatures suffisamment robustes et discriminantes pour chacune des différentes classes de perturbateurs endocriniens.

À plus court terme, l'utilisation de puces à haute densité pourrait être envisagée pour l'évaluation de nouvelles substances avant leur mise sur le marché, ou, pour la révision de substances anciennes. En effet, ces procédures reposent sur des tests réalisés avec des espèces modèles (poisson zèbre, médaka, truite), dont le transcriptome est en passe d'être complètement annoté. Il sera alors possible de caractériser l'empreinte transcriptomique complète des composés testés. Et cette empreinte pourra alimenter l'évaluation du risque par comparaison avec l'empreinte de perturbateurs endocriniens connus.

Valorisations



Publications scientifiques

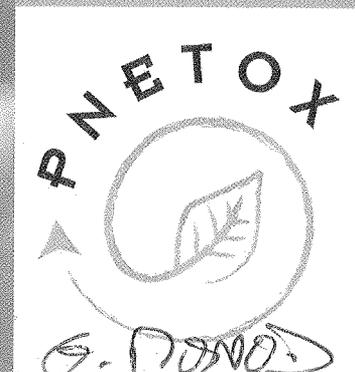
- Baron, D. & Guiguen, Y. (2004), Gene expression during gonadal sex differentiation in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) : from candidate genes studies to high throughput genomic approach, **Fish Physiology and Biochemistry** 28 : 119-123.
- Baron, D., Fostier, A., Breton, B. & Guiguen, Y. (2005), Androgen and estrogen treatments alter steady state messengers RNA (mRNA) levels of testicular steroidogenic enzymes in the rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*, **Molecular Reproduction and Development** 71: 471-479.
- Baron, D., Houlgatte, R., Fostier A., Guiguen, Y. (2005), Large-scale temporal gene expression profiling during gonadal differentiation and early gametogenesis in rainbow-trout, **Biology of Reproduction** 73 : 959-966.
- Bobe, J., Rime, H., Fostier A. & Monod, G. Prochloraz-induced oocyte maturation in rainbow trout, a gonadotropin-like effect but a gonadotropin-unlike mechanism? (en préparation).
- Mazurais, D., Montfort, J., Delalande, C., Le Gac, F. (2005), Transcriptional analysis of testis maturation using trout cDNA microarrays, **General and Comparative Endocrinology** 142 : 143-154.
- Monod G., Rime H., Bobe J., Jalabert B. (2004), Agonistic effect of imidazole and triazole fungicides on in vitro oocyte maturation in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*), **Marine Environmental Research** 58 : 143-146.

Thèse

- Baron D. (2005), Utilisation des outils de la génomique expressionnelle pour l'étude de la différenciation sexuelle, chez la truite arc-en-ciel, *Oncorhynchus mykiss*. Thèse de doctorat (Biologie), Université de Rennes 1 et Agrocampus.

Colloque de restitution du Programme National d'Écotoxicologie

Lille Grand Palais • 13 et 14 octobre 2008



Écotoxicologie Terrestre et Aquatique De la recherche à la gestion des milieux



Liberté • Égalité • Fraternité
RÉPUBLIQUE FRANÇAISE

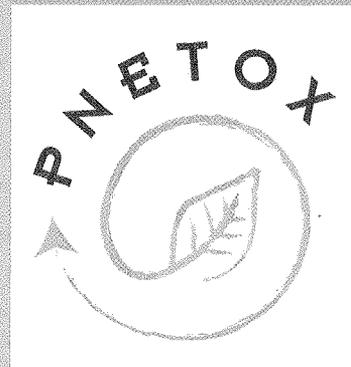
Ministère
de l'Écologie, de l'Énergie,
du Développement durable
et de l'Aménagement
du territoire

INERIS

maîtriser le risque
pour un développement durable

Colloque de restitution du Programme National d'Ecotoxicologie

Lille Grand Palais • 13 et 14 octobre 2008



➔ Ecotoxicologie Terrestre et Aquatique : de la recherche à la gestion des milieux

Le Programme National d'Ecotoxicologie (PNETOX) a été lancé en 1996 par le ministère chargé de l'environnement. Ce colloque vise à rassembler chercheurs, représentants des services de l'Etat et des collectivités, des secteurs agricole, industriels et du milieu associatif autour de deux questions principales :

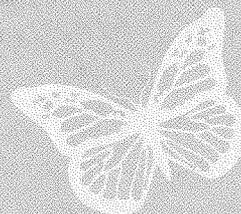
- Comment la connaissance produite et les méthodes mises au point permettent aujourd'hui de **mieux gérer les milieux naturels** ?
- Quelle nouvelle connaissance produire dans le futur pour **répondre aux enjeux de demain dans la gestion des milieux naturels** ?



Liberté • Egalité • Fraternité
RÉPUBLIQUE FRANÇAISE



Ministère
de l'Écologie, de l'Énergie,
du Développement durable
et de l'Aménagement
du territoire



INERIS

maîtriser le risque |
pour un développement durable