

> Dans les années 1990, des biologistes ont mis en évidence d'autres types de marques épigénétiques et leur fonctionnement. Ils ont découvert que des groupes méthyle, acétyle (CO-CH_3) et d'autres modifications biochimiques marquent des groupes de protéines nommées histones. Dans un chromosome, la molécule d'ADN s'enroule autour de chaque groupe d'histones, formant comme un collier de perles. Les marques épigénétiques contrôlent le degré de resserrement des boucles d'ADN autour des «perles» et l'écart entre chaque perle, ce qui active ou inhibe des ensembles entiers de gènes. Par exemple, les gènes situés dans les endroits très compacts sont réduits au silence, car inaccessibles à la machinerie qui lit les gènes.

Depuis, on a identifié d'autres acteurs épigénétiques tels que la structure tridimensionnelle changeante de l'ADN ou des ARN dits «non codants». Les ARN sont des molécules produites par la cellule lors de la lecture du code ADN. Nombre d'entre eux sont des intermédiaires dans la fabrication des protéines. Mais parmi les ARN non codants (non traduits en protéines), certains modulent les marques épigénétiques de l'ADN et des histones.

Tous ces acteurs épigénétiques régulent l'activité des gènes de façon complexe, sans changement de la séquence d'ADN. L'interaction des gènes et de l'épigénome, l'ensemble des marques épigénétiques, est dynamique et reste encore mystérieuse. On sait que

d'ADN des altérations, la carte des marques épigénétiques varie au cours du développement de l'individu. Ces changements contribuent à déterminer la spécialisation des cellules, c'est-à-dire leur acquisition des caractéristiques de cellules de la peau ou de neurones, par exemple: de légères modulations de l'information épigénétique suffisent à changer la carte des gènes actifs dans tout l'organisme. De même, les substances chimiques dangereuses, les carences nutritives et autres types de stress pourraient entraîner l'apparition ou la disparition de marques épigénétiques, et modifier l'activité des gènes.

Aujourd'hui, le rôle crucial des marques épigénétiques dans le développement, le vieillissement et même le cancer ne fait aucun doute. Mais les biologistes débattent sur la portée de leurs effets: des épimutations anormales peuvent-elles se transmettre sur plusieurs générations de mammifères?

UN HÉRITAGE ACCIDENTEL

Mon premier contact avec cette question a été fortuit. Il y a quelques années, avec des collègues, nous étudions les effets, sur la reproduction des rats, de deux substances chimiques employées dans l'agriculture: le méthoxy-chlore, un pesticide, et la vinclozoline, un fongicide. Ces molécules sont des perturbateurs endocriniens: elles interfèrent avec les signaux hormonaux qui orchestrent la formation des organes de reproduction et leur fonctionnement. Nous les avons injectées à des rates au cours de leur deuxième semaine de gestation – au moment où les gonades de l'embryon se développent. Presque tous les descendants mâles nés de ces mères ont présenté des testicules anormaux, fabriquant des spermatozoïdes médiocres en qualité et en quantité.

Nous ne pensions alors pas à un effet épigénétique, et encore moins à une transmission de ces anomalies par les mères exposées. Aussi n'avions-nous pas prévu de les élever et d'étudier leur descendance. Or un jour, par erreur, on accoupla des rats mâles et femelles issus de cette expérience (sans lien de parenté). Résultat? Plus de 90% des mâles de ces portées arboraient les mêmes anomalies des testicules que leur père, alors que leurs parents étaient des embryons de la taille d'une tête d'épingle lorsque leurs propres mères avaient été exposées aux substances chimiques.

Cela nous surprit. De nombreuses études toxicologiques avaient recherché si des substances répandues dans l'environnement, comme le méthoxy-chlore ou la vinclozoline, provoquaient des mutations de l'ADN. En vain. Ce que confirmait notre étude. De plus, la génétique classique ne pouvait expliquer l'apparition d'un nouveau trait chez 90% de rats issus de différentes familles.

**On lègue
à nos enfants,
petits-enfants...
bien plus qu'un
code génétique
fait d'ADN**

chaque fois qu'une cellule se divise, les marques épigénétiques de ses chromosomes sont copiées et se retrouvent dans ceux des cellules filles. Les événements épigénétiques survenus tôt dans la vie peuvent donc altérer le comportement des cellules à long terme.

De plus, alors que les cellules sont équipées d'une machinerie qui protège la séquence

Cependant, une autre explication était envisageable : l'exposition aux substances chimiques avait eu lieu alors que l'embryon contenait déjà des cellules germinales primordiales – des cellules qui se spécialiseront en spermatozoïdes ou en ovules. La substance chimque aurait pu influencer directement ces cellules, l'effet persister dans les spermatozoïdes ou les ovules qu'elles avaient donnés et, par conséquent, se retrouver dans les fruits de leur fécondation : les petits de la génération suivante, soit la troisième génération depuis les mères exposées. Si tel était le cas, alors la brève exposition aux substances chimiques aurait directement entraîné les anomalies des testicules des petits rats de la troisième génération, mais les générations suivantes devraient être normales.

LES RATS MAUDITS SUR PLUSIEURS GÉNÉRATIONS

Pour le vérifier, nous avons élevé une quatrième génération de rats, puis une cinquième, en accouplant à chaque fois des descendants des rats exposés à l'origine, afin d'éviter la dilution du trait étudié. À chaque fois, les rats souffraient des mêmes problèmes que leurs ascendants. Et tous ces changements résultaient d'une exposition brève (mais à des doses bien plus élevées) à des produits utilisés dans l'agriculture pendant des décennies.

Après plusieurs années d'expériences qui ont confirmé ces résultats, nous avons formulé l'hypothèse suivante : l'exposition aux

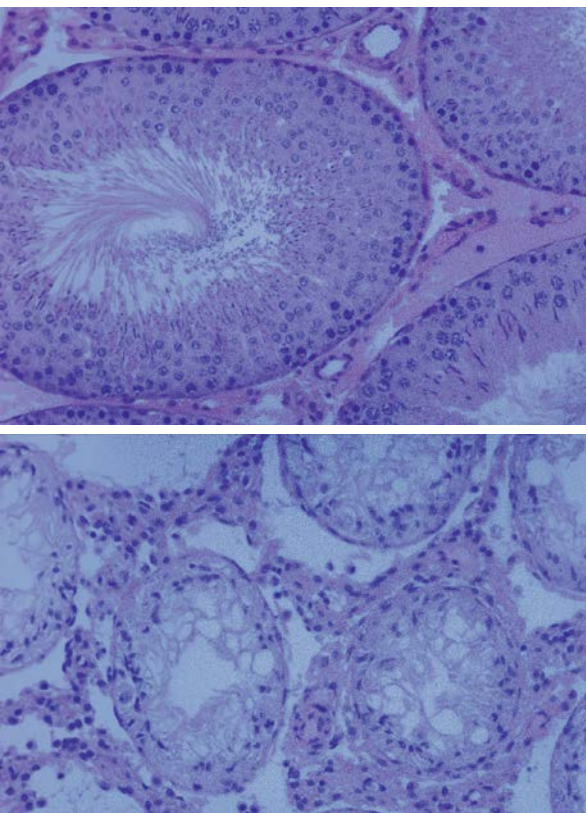
substances avait déclenché l'apparition d'épimutations pathologiques pour le développement des testicules. Au moment de la fécondation, ces épimutations passeraient du spermatozoïde à l'embryon, puis persisteraient dans ses cellules germinales primordiales, et ainsi de suite de génération en génération. En accord avec cette hypothèse, nos études préliminaires suggéraient des défauts de méthylation de l'ADN dans les spermatozoïdes des descendants des mâles exposés au fongicide.

Nos résultats déclenchèrent une tempête de réactions. Notamment, diverses équipes, issues de sociétés commercialisant la vinclozoline ou indépendantes, ont signalé qu'elles n'arrivaient pas à reproduire certains résultats. Ces incompatibilités pourraient être liées à des protocoles expérimentaux différents : administration par ingestion ou par injection, utilisation d'autres lignées de rats, mise en accouplement des mâles anormaux avec des femelles issues d'une lignée non exposée. Néanmoins, nous avons accumulé d'autres preuves suggérant que les épimutations pourraient persister sur plusieurs générations.

Notamment, nous avons mis en évidence des anomalies de méthylation de l'ADN dans les spermatozoïdes, les testicules et les ovaires de la quatrième génération issue des rats exposés au fongicide. L'activité des gènes dans leurs cellules germinales primordiales est aussi perturbée. Ces descendants ont également tendance à grossir et à être sujets au stress ; ils sélectionnent même leurs partenaires différemment.

Dans le même temps, la liste des agents polluants et stressants produisant des effets transgénérationnels s'est allongée. En 2012, nous avons montré que l'exposition de rates gravides à des polluants comme la dioxine, le kérosène, les insecticides ou un mélange de bisphénol A et de phtalates... déclenche des troubles qui persistent chez les rats de la quatrième génération : anomalies de la puberté, obésité, maladies des ovaires, des reins et de la prostate... Dans leurs spermatozoïdes, les profils de méthylation de l'ADN comptent des centaines d'anomalies spécifiques de l'agent auquel leurs ancêtres ont été exposés. De plus, les effets observés ne suivent pas les profils classiques de transmission génétique, ce qui suggère que des épimutations, et non des mutations génétiques, sont la cause de ces troubles.

Les doses utilisées pour ces études sont bien plus importantes que celles auxquelles l'homme ou l'animal sont exposés dans un environnement même fortement contaminé. Cependant, une étude de Jennifer Wolstenholme, de l'université de Virginie, suggère que des effets transgénérationnels sont aussi possibles à des concentrations plus réalistes. Du bisphénol A a été introduit dans l'alimentation de souris à des doses reproduisant des concentrations dans le sang équivalentes à celles



Des arrière-petits bébés de rats exposés à un pesticide, la vinclozoline, se sont révélés peu fertiles, comme certains de leurs ascendants indirects. En témoigne la morphologie de leurs testicules en coupe histologique (*en bas*), anormale par rapport à celle d'un rat sain (*en haut*). Cette malformation serait due à un mécanisme épigénétique.

UNE HÉRÉDITÉ D'UN NOUVEAU GENRE

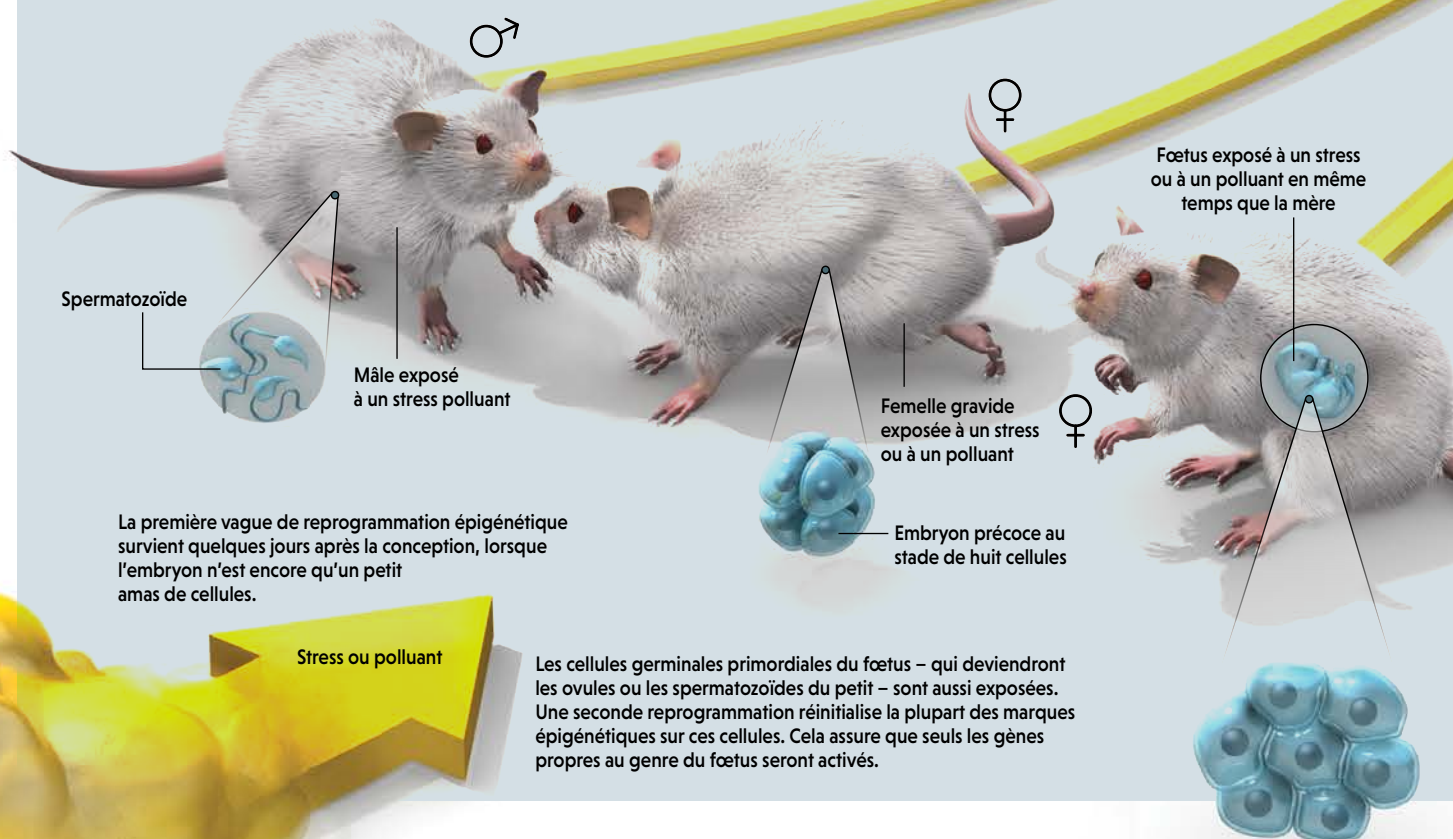
Des biologistes ont découvert que les événements auxquels sont confrontés les animaux et les plantes au cours de leur vie – une exposition à certains polluants ou au stress, par exemple – peuvent influencer la santé de leurs descendants sans causer de mutations dans leur génome. De telles expositions peuvent avoir des conséquences sur les deux premières générations de descendants en agissant sur les spermatozoïdes, les ovules et les autres cellules de la reproduction. On parle d'effet direct intergénérationnel. Les générations suivantes seraient parfois aussi touchées par le biais d'étiquettes chimiques qui se lient à l'ADN dans les cellules. La transmission est alors dite épigénétique transgénérationnelle.

Comment des caractères épigénétiques peuvent persister sur plusieurs générations

L'exposition à un polluant ou à un stress peut faire apparaître des caractères non transmissibles sur deux générations si elle concerne un mâle et son spermatozoïde, ou sur trois générations s'il s'agit d'une femelle gravide et si l'exposition survient à un certain stade de la gestation (*en bleu page ci-contre*). Pour que ce caractère épigénétique soit transmis aux générations suivantes (*en rouge*), le marquage altéré doit résister aux deux vagues de reprogrammation qui, après la conception, « réinitialise » la plupart des étiquettes épigénétiques des chromosomes (*ci-dessous*). Des études sur des rongeurs suggèrent qu'une telle transmission transgénérationnelle existe.

Bébés rats de la deuxième génération

De nouveaux caractères apparus chez les bébés rats pourraient être dus à l'exposition directe des spermatozoïdes de leur père, ou de leur propre fœtus dans le ventre de leur mère. Si les cellules germinales primordiales des bébés rats ont été exposées, alors leurs ovules ou spermatozoïdes ont aussi pu être contaminés directement. Leurs futurs petits (la troisième génération) seraient alors eux aussi contaminés. De tels effets directs, dits intergénérationnels, ne sont pas à proprement parler transmis d'une génération à l'autre.



La première vague de reprogrammation épigénétique survient quelques jours après la conception, lorsque l'embryon n'est encore qu'un petit amas de cellules.

Stress ou polluant

Les cellules germinales primordiales du fœtus – qui deviendront les ovules ou les spermatozoïdes du petit – sont aussi exposées. Une seconde reprogrammation réinitialise la plupart des marques épigénétiques sur ces cellules. Cela assure que seuls les gènes propres au genre du fœtus seront activés.