

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, 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 chaque fois qu'une cellule se divise, les marques épigénétiques de ses chromosomes sont copiées sur 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 d'ADN des altérations, elles corrigent la carte des marques épigénétiques 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 nombre croissant d'études, dont celles que nous avons menées, m'en ont convaincu.

Un héritage accidentel

Mon premier contact avec cette question a été fortuit. Il y a environ 13 ans, avec Andrea Cupp et d'autres collègues de l'Université d'État de Washington, nous étudions les effets, sur la reproduction des rats, de deux substances chimiques employées dans l'agriculture : le méthoxychlore, 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, Andrea Cupp accoupla des rats mâles et femelles issus de cette expérience (sans lien de parenté).

Le résultat fut étonnant : 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, telles que le méthoxychlore 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.

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 chimique 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.

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. Résultat : les mâles des quatrième et cinquième générations souffraient des mêmes

■ L'AUTEUR



Michael SKINNER est professeur de biologie à l'Université d'État de Washington, aux États-Unis.

GLOSSAIRE

Épimutation :

Modification chimique d'un chromosome ou des protéines qui le structurent, sans altération de la séquence d'ADN. Des marques dites épigénétiques – un groupe méthyle par exemple – sont ajoutées ou ôtées, ce qui module l'expression de gènes.

Épigénome :

Ensemble des épimutations.

Gène soumis à empreinte parentale :

Chez un individu donné, un tel gène porte une marque épigénétique qui atteste qu'il provient soit de la mère de l'individu, soit de son père. Les deux copies du gène sont présentes dans le génome de l'individu, mais grâce à cette marque, seule l'une des deux s'exprimera.

Cellules germinales primordiales :

Cellules de l'embryon qui se spécialiseront en spermatozoïdes ou en ovules.

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.

Un effet jusqu'à la 5^e génération

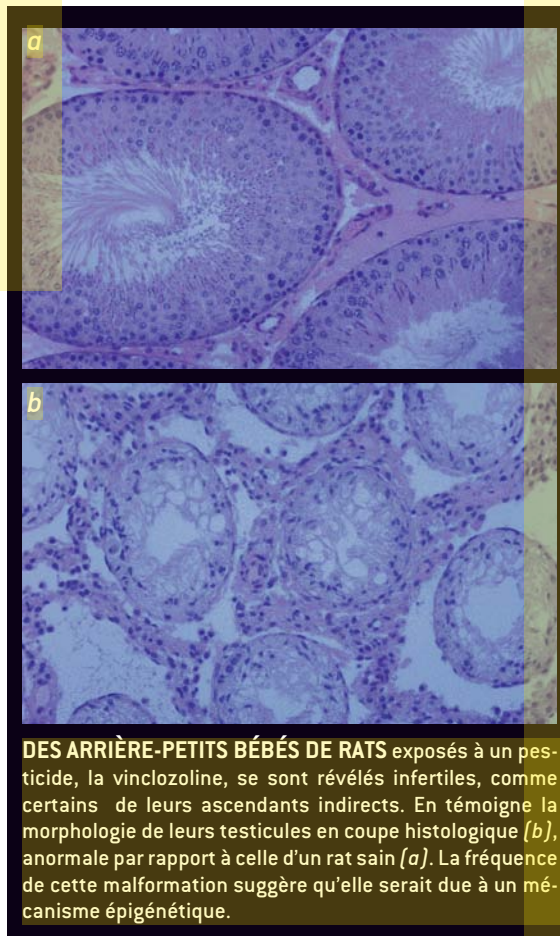
La publication de ces résultats, en 2005, a déclenché une tempête. Notamment, diverses équipes, issues de sociétés commercialisant la vinclozoline ou indépendantes, ont signalé qu'elles n'arrivaient pas à reproduire certains résultats. Ces incompatibilités pourraient être liées à des protocoles expérimentaux 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 aussi 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. Plusieurs

équipes ont constaté une transmission de caractères acquis chez un grand nombre d'espèces, dont les plantes, mouches, vers, poissons, rongeurs et porcs.

En 2012, nous avons montré que l'exposition de rates gravides (en période de gestation) à des polluants tels que la dioxine, le kérosène, les insecticides ou un mélange de bisphénol A et de phtalates – des composants des récipients alimentaires plastiques ou des plombages dentaires – déclenche des troubles persistant chez les rats de la qua-



DES ARRIÈRE-PETITS BÉBÉS DE RATS exposés à un pesticide, la vinclozoline, se sont révélés infertiles, comme certains de leurs ascendants indirects. En témoigne la morphologie de leurs testicules en coupe histologique (b), anormale par rapport à celle d'un rat sain (a). La fréquence de cette malformation suggère qu'elle serait due à un mécanisme épigénétique.

trième 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.

Dans une expérience similaire chez la souris, Kaylon Bruner-Tran et Kevin Osteen, de l'Université Vanderbilt aux États-Unis, ont

constaté qu'environ la moitié des femelles nées de souris exposées à de la dioxine étaient stériles. Et nombre de celles qui ne l'étaient pas ont mis bas prématurément. Ces problèmes ont persisté au moins sur deux autres générations.

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 mesurées chez des femmes enceintes américaines. Les descendants des souris exposées passaient moins de temps à explorer la cage et davantage à interagir avec leurs congénères, et ce, sur cinq générations. Selon les chercheurs, ce changement de comportement serait dû à une altération de la production de deux protéines clés, l'ocytocine et la vasopressine. Ils ont aussi observé que les profils de méthylation de l'ADN étaient perturbés chez les descendants, mais le lien entre ces deux observations reste à prouver.

Existe-t-il des effets similaires chez l'homme ? Une étude en cours fait suite à la catastrophe de Seveso, en Italie : en 1976, l'explosion d'une usine chimique a exposé les habitants des environs, dont Seveso, à des taux de dioxine inédits. En suivant la concentration sanguine en dioxine de 1 000 femmes exposées et leur bilan de santé, les chercheurs

ont établi, en 2010, une corrélation entre le degré d'exposition à la dioxine et la capacité à avoir des enfants. À chaque multiplication par dix du taux de dioxine, le temps moyen pour tomber enceinte augmente de 25 %, et le risque de stérilité est doublé.

En 2013, la même équipe a rapporté que les jeunes filles âgées de moins de 13 ans au moment des faits avaient deux fois plus de risques de développer à l'âge adulte un syndrome métabolique – une conjonction de diverses caractéristiques (forte pression artérielle, concentration élevée de glucose dans le sang...) prédisposant au diabète

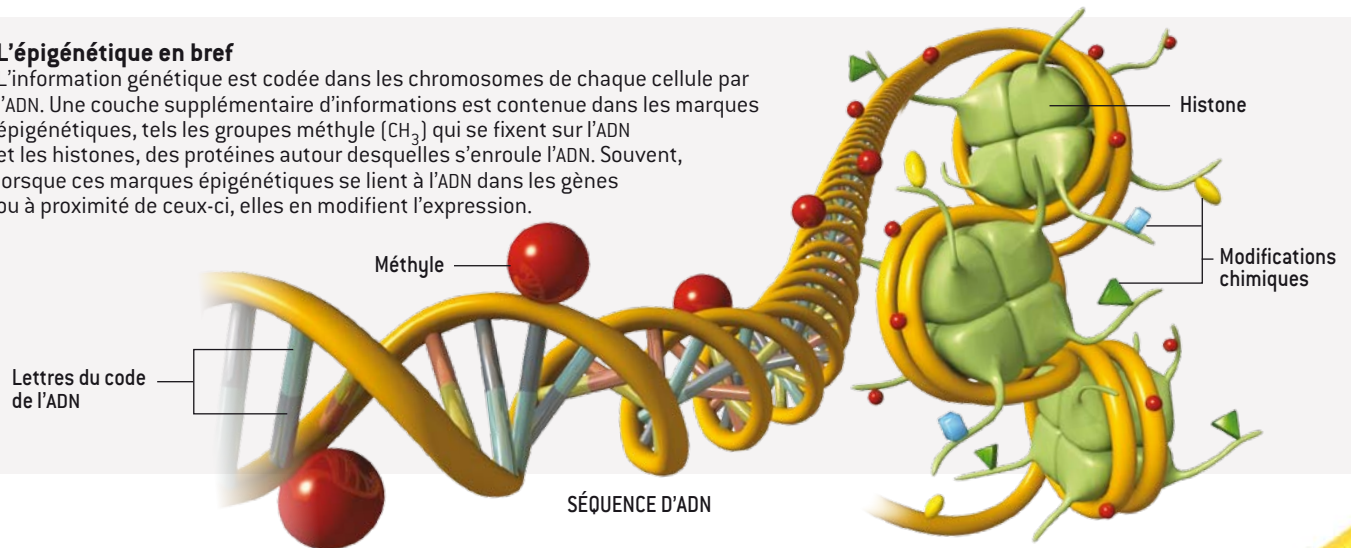
UN HÉRITAGE HORS DES GÈNES

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 sur 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.

L'épigénétique en bref

L'information génétique est codée dans les chromosomes de chaque cellule par l'ADN. Une couche supplémentaire d'informations est contenue dans les marques épigénétiques, tels les groupes méthyle (CH_3) qui se fixent sur l'ADN et les histones, des protéines autour desquelles s'enroule l'ADN. Souvent, lorsque ces marques épigénétiques se lient à l'ADN dans les gènes ou à proximité de ceux-ci, elles en modifient l'expression.



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.

