



HAL
open science

Génotoxicité et perturbation de la reproduction chez l'épinoche à trois épines

Wilfried Sanchez

► **To cite this version:**

Wilfried Sanchez. Génotoxicité et perturbation de la reproduction chez l'épinoche à trois épines. Rapport Scientifique INERIS, 2013, 2012-2013, pp.30-31. ineris-01869455

HAL Id: ineris-01869455

<https://ineris.hal.science/ineris-01869455>

Submitted on 6 Sep 2018

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.



Génotoxicité et perturbation de la reproduction chez l'épinoche à trois épines

CONTRIBUTEUR



Wilfried Sanchez

De nombreux polluants environnementaux peuvent altérer la structure de l'ADN ou les composants cellulaires assurant la transmission d'un génome fidèlement similaire. Malgré l'existence de systèmes de réparation des altérations génotoxiques, des mutations délétères peuvent survenir. Si des phénomènes de cancérisation sont observables au niveau individuel lorsque des cellules somatiques sont atteintes, des perturbations peuvent s'exprimer de façon transgénérationnelle lorsque c'est l'ADN des cellules germinales qui est altéré [A]. L'existence d'une pression génotoxique pourrait alors être un élément explicatif des perturbations de la structure des peuplements piscicoles, voire du déclin de certaines espèces. Afin d'évaluer cette hypothèse, l'INERIS et l'UMR 5023 de l'Université de Lyon ont initié des travaux visant à évaluer le lien entre l'altération de l'ADN des cellules germinales et les perturbations de la descendance chez l'épinoche à trois épines, un poisson utilisé comme modèle à l'INERIS pour le développement des biomarqueurs [B]. Des expérimentations basées sur des essais *ex vivo* sur des

spermatozoïdes, des essais *in vivo* sur des épinoches exposées, en laboratoire, au méthanesulfonate de méthyl (MMS), un génotoxique de référence, et des essais *in situ* sur des poissons collectés dans différents cours d'eau ont été mises en œuvre. Chacune de ces expérimentations a associé la mesure des dommages à l'ADN par le test des comètes et le suivi de la descendance obtenue par des fécondations *in vitro*.

Première preuve obtenue *ex vivo*

Afin d'évaluer l'existence d'un lien entre l'endommagement de l'ADN spermatique et la qualité de la descendance, une première expérimentation a été réalisée *ex vivo* [C]. Des spermatozoïdes d'épinoche ont été collectés, puis exposés pendant une heure à différentes concentrations de MMS (*i.e.* 2, 3, 4 et 5 μM). Une fraction de l'échantillon a alors été utilisée pour déterminer le niveau d'endommagement de l'ADN induit par cette exposition, alors que l'autre fraction a été utilisée pour féconder *in vitro* des ovocytes d'épinoches non exposées. Les résultats obtenus montrent un endommagement de l'ADN proportionnel à la concentration d'exposition, avec une augmentation des dommages d'un facteur 3 entre les groupes contrôles et ceux exposés à 5 μM . Parallèlement, le taux d'anomalies embryolaires (par exemple: œdèmes, cyphose, lordose, Figure 1) augmente en fonction de la concentration testée, passant de 10% chez les poissons contrôles à plus de 75% chez les poissons issus de spermatozoïdes exposés à 5 μM . Cette première expérimentation démontre, chez l'épinoche, la pertinence d'évaluer le lien existant entre l'intégrité du génome des gamètes et la qualité de la descendance.

Confirmation *in vivo* au laboratoire

Une seconde expérimentation a été réalisée dans des conditions plus réalistes d'un point de vue biologique en exposant des épinoches mâles et/ou femelles en période de reproduction, à différentes concentrations de MMS (*i.e.* 0,05, 0,5 et 5 μM) sur une période comprise entre 18 et 58 jours [D]. Lorsque les poissons atteignent leur maturité, les cellules germinales (spermatozoïdes ou ovocytes) sont collectées et utilisées pour réaliser une fécondation *in vitro* et mesurer le niveau d'endommagement de l'ADN des spermatozoïdes. Un endommagement de l'ADN spermatique proportionnel à la concentration et au

Références

- [A] Devaux A., Fiat L., Gillet C. *et al.* Reproduction impairment following paternal genotoxin exposure in brown trout (*Salmo trutta*) and Arctic charr (*Salvelinus alpinus*). *Aquatic Toxicology*, 2011, 101, pp. 405-411.
- [B] Sanchez W., Katsiadaki I., Piccini B. *et al.* Biomarker responses in wild three-spined stickleback (*Gasterosteus aculeatus* L.) as a useful tool for freshwater biomonitoring: A multiparametric approach. *Environment International*, 2008, 34, pp. 490-498.
- [C] Santos R., Palos-Ladeiro M., Besnard A. *et al.* Relationship between DNA damage in sperm after *ex vivo* exposure and abnormal embryo development in the progeny of the three-spined stickleback. *Reproductive Toxicology*, 2012, 36, pp. 6-11.
- [D] Santos R., Palos-Ladeiro M., Besnard A. *et al.* Parental exposure to methyl methane sulfonate of three-spined stickleback: contribution of DNA damage in male and female germ cells to further development impairment in progeny. *Ecotoxicology*, 2013, 22, pp. 815-824.
- [E] Lacaze E., Geffard O., Goyet D. *et al.* Linking genotoxic responses in *Gammarus fossarum* germ cells with reproduction impairment, using the Comet assay. *Environmental Research*, 2011, 111, pp. 626-634.
- [F] Lewis C., Galloway T. *Reproductive consequences of paternal genotoxin exposure in marine invertebrates.* *Environmental Science and Technology*, 2009, 43, pp. 928-933.
- [G] Santos R. *Un biomarqueur de génotoxicité chez l'épinoche (Gasterosteus aculeatus): application au biomonitoring et étude de sa valeur prédictive en écotoxicologie.* Thèse de l'Institut national des sciences appliquées de Lyon, spécialité Environnement industriel et urbain, 2013, p. 224.

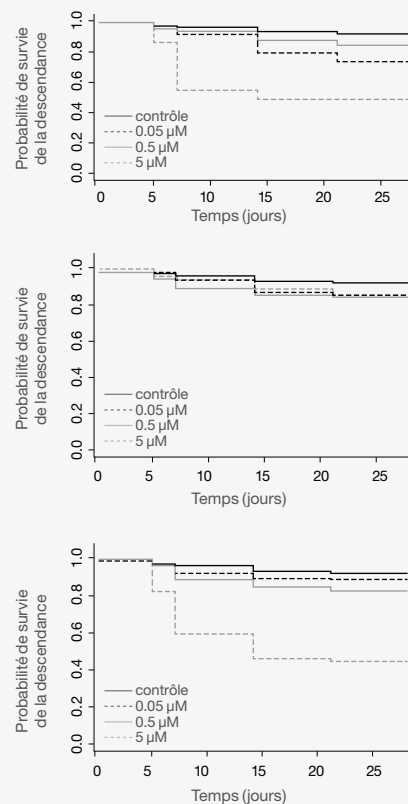
Figure 1

Anomalies morphologiques identifiées chez des larves d'épinoches à trois épines. De haut en bas : larve témoin, larve présentant une anomalie squelettique, larve présentant des œdèmes.



Figure 2

Courbes de survie de Kaplan-Meier présentant la probabilité de survie des larves d'épinoches issues de parents exposés ou non au MMS. De haut en bas : mâle exposé et femelle non exposée, mâle non exposé et femelle exposée, mâle et femelle exposés.



temps d'exposition des organismes est mis en évidence parallèlement à une diminution de la probabilité de survie des larves issues de parents exposés au MMS. Cette expérimentation permet, de plus, d'investiguer plus précisément la part de chaque géniteur dans les altérations de la descendance et montre que les altérations de l'ADN spermatiques jouent un rôle majeur dans la transmission d'aberrations génétiques (Figure 2). Ce résultat confirme l'existence d'un lien entre endommagement génotoxique au niveau des gamètes et perturbation de la descendance, et alimente un faisceau de preuves obtenu chez différentes espèces [E, F].

Une pertinence environnementale à évaluer

Les résultats acquis au laboratoire confirment l'existence d'un lien entre l'exposition à des molécules génotoxiques et les

altérations de la descendance, qui pourrait expliquer les perturbations populationnelles observées dans certains cours d'eau. La pertinence environnementale de cette hypothèse reste encore à évaluer dans des contextes de contamination environnementalement pertinents. Des premiers travaux ont été menés dans ce sens en utilisant des épinoches collectées dans plusieurs cours d'eau et tendent à montrer *in situ* l'existence de ce lien chez des poissons autochtones de cours d'eau soumis à un stress génotoxique [G]. Ce travail doit désormais se poursuivre afin de confirmer la pertinence écologique de cette relation. Pour ce faire, des polluants environnementaux génotoxiques pourraient être utilisés en remplacement du MMS. De même, l'utilisation des mésocosmes permettrait d'allier réalisme écologique et maîtrise de l'exposition, et ainsi de mieux identifier une éventuelle relation.

ABSTRACT

Many environmental pollutants are genotoxicants and can induce genetic damages in wild organisms. If genetic damage occurs in somatic cells, deleterious effects are restricted to the exposed organisms but when

it affects germ cells, it may increase the risk of progeny defects as clearly pointed out in humans and aquatic species. Hence, identification of genetic risks related to environmental genotoxicants is a crucial point. In this context, INERIS and the UMR 5023 of the University of Lyon investigate the relationship between DNA damage of germ cells and progeny survival or development abnormalities. For this purpose, the three-spined stickleback is used as model fish

species. *Ex vivo* and *in vivo* experiments highlight that exposure to MMS, a model genotoxicant, affects significantly sperm DNA integrity and increases mortality during embryo-larval stages and abnormality rate at hatching. Field studies were also performed to address this relationship in wild sticklebacks but further studies are needed to confirm the ecological relevance of this hypothesis.