

Exposition aux basses fréquences (50Hz) et leucémie chez l'enfant : l'épigénétique est-elle impliquée ?

Résultats préliminaires issus du projet CLeMAN

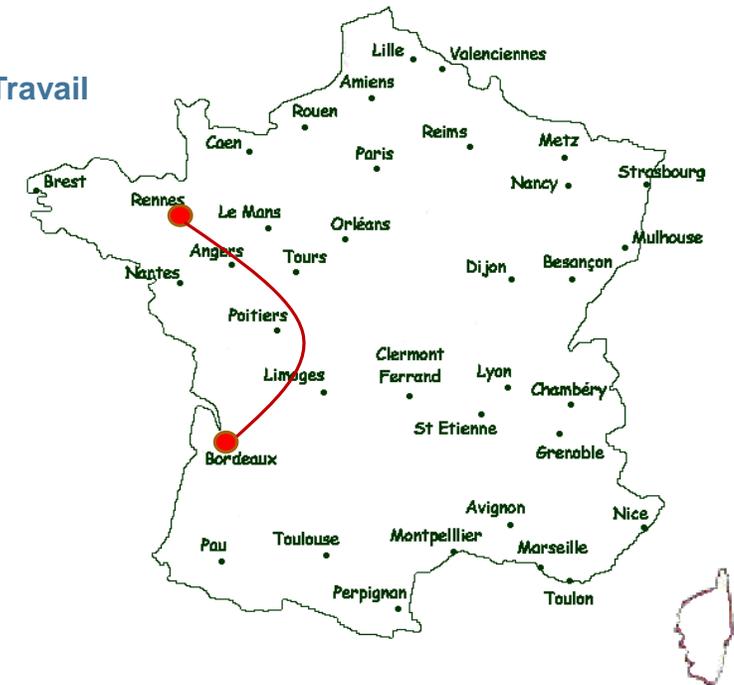
Denis Habauzit

Childhood leukemia and magnetic fields (CLeMAn) : Un projet collaboratif



Equipe Transcription, Environnement & Cancer
U1085 Inserm
Institut de Recherche en Santé, Environnement, Travail

Denis Habauzit, Catherine Martin et Yves Le Dréan.



**École Pratique
des Hautes Études**

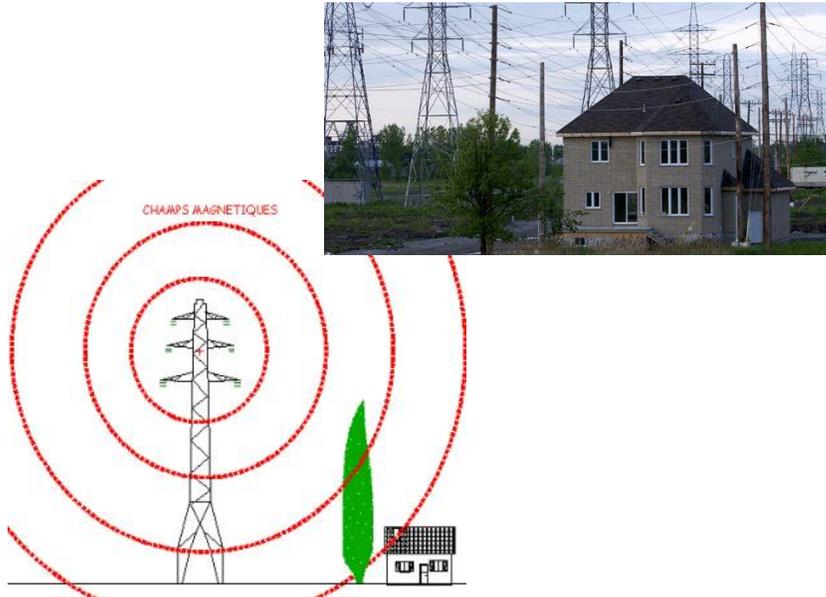


Laboratoire de bioélectromagnétisme EPHE
Equipe Bioélectromagnétisme, groupe
Bioélectronique, Laboratoire IMS UMR 5218

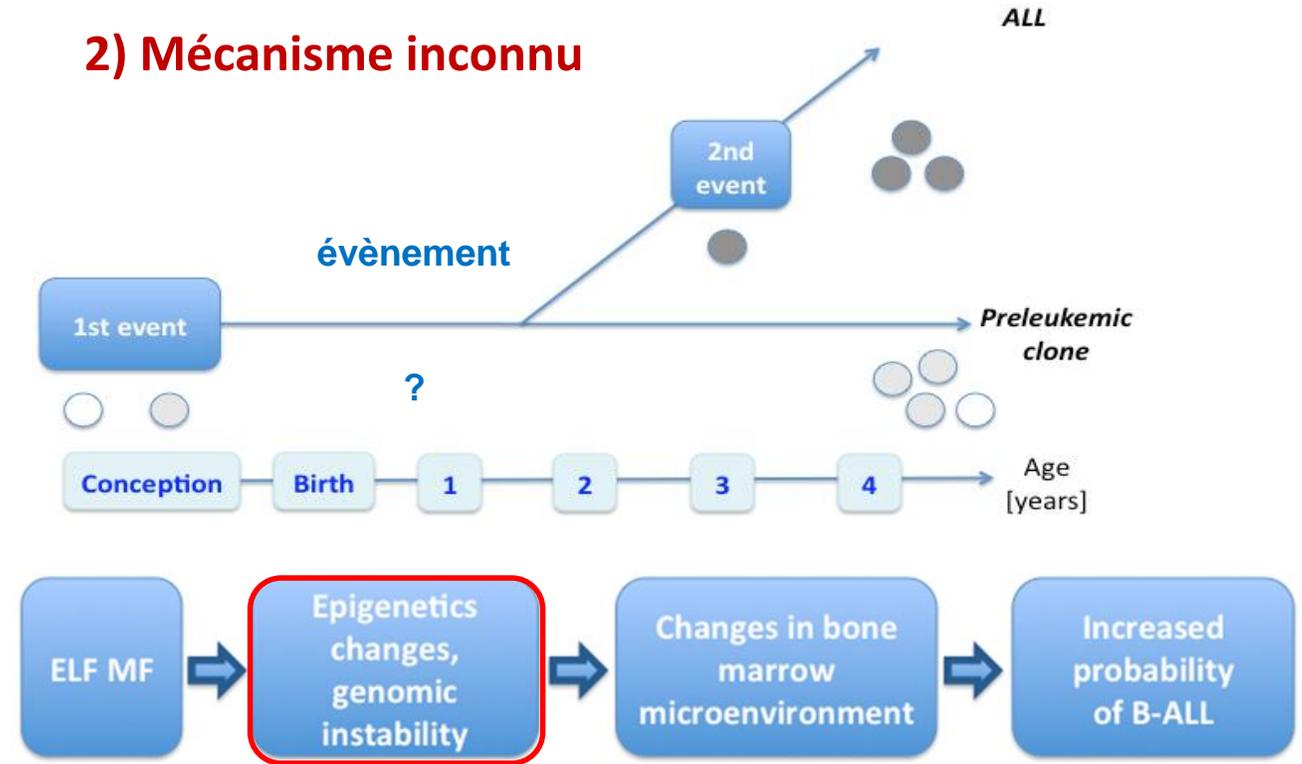
**Florence Poulletier de Gannes, Emmanuelle Poque-Haro,
Annabelle Hurtier et Isabelle Lagroye**

Concept porté par le projet CLeMAN

1) Lien Epidémiologique entre ELF-MF et la Leucémie infantile



2) Mécanisme inconnu



Impact de l'exposition aux ELF-MF ?

Conditions Expérimentales

1) Modèle biologique



8 portées / série d'exposition

6 séries d'exposition



2) Système d'exposition



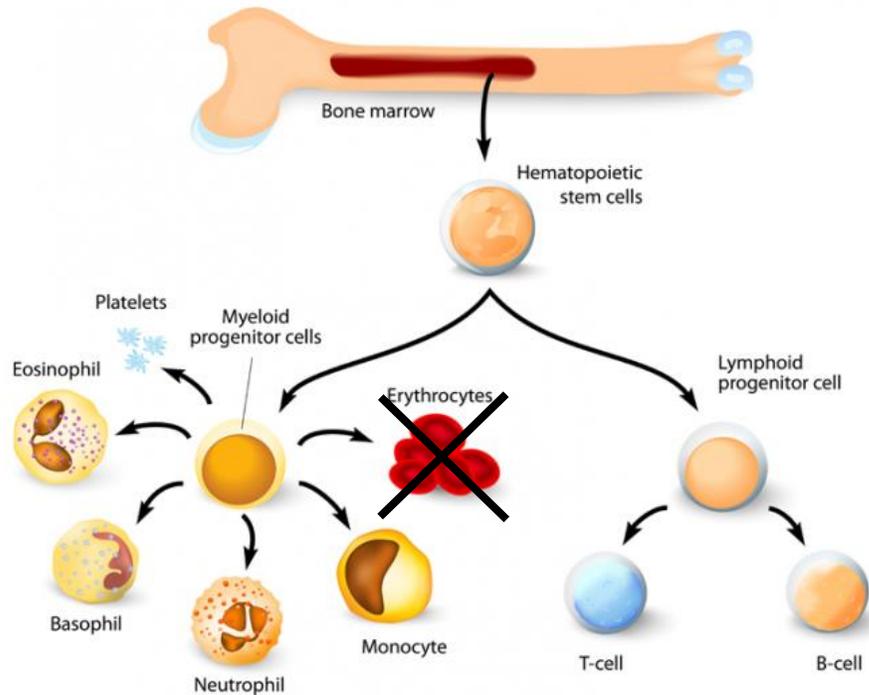
50 Hz - 1000 μ T 8 h/J – 5 j/semaine

De la conception (E0.5) à 8 semaines postnatal

+
contrôles de
l'instabilité génétique

±
MNU (methylnitrosourée)
et ±
Mâles DBA2 irradiés aux
rayons X

Evaluation des modifications de la moelle osseuse



Répartition
des cellules

1) Dommages à l'ADN



2) Modification des
marques épigénétiques

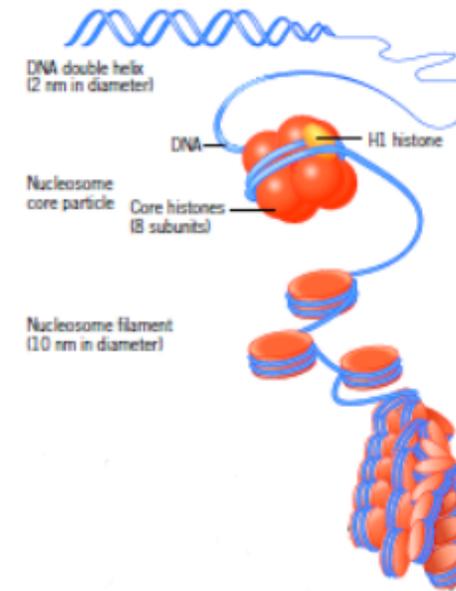
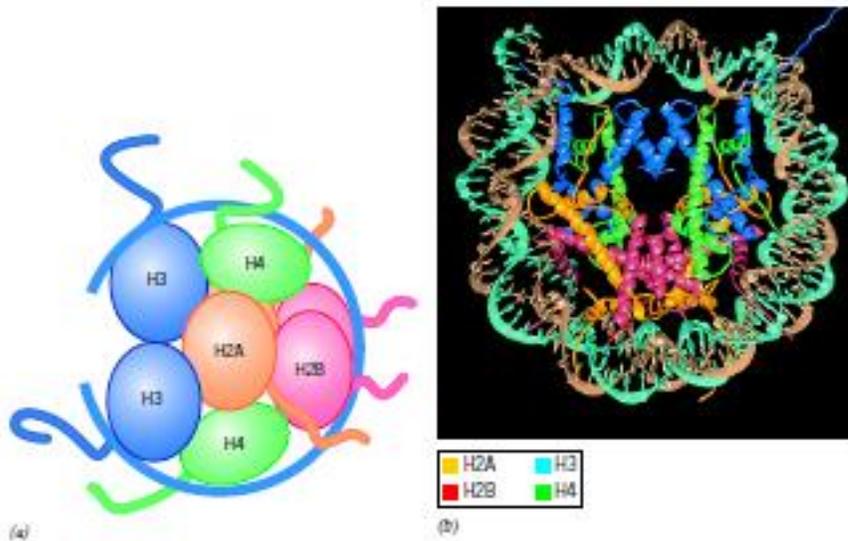


a) Effets Globaux dans le noyau

b) Modification des promoteurs de certains
gènes cibles (ChIP)

Les marques épigénétiques

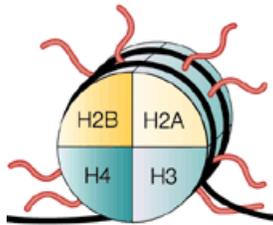
- ADN siège de l'information génétique de chaque individu
- Epigénétique = première étape de régulation de l'expression génétique



Décompactons
=
accessibilité des
gènes

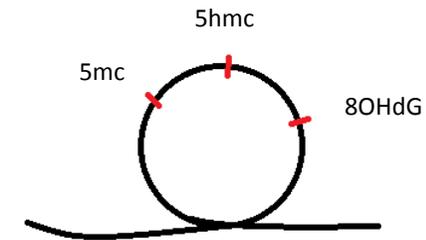
Quelles modifications Epigénétiques ?

1) Modifications d'histones



- Promoteur de gènes actifs • H3K4me3 ← *MLL1*
- Promoteur de gènes inactifs • H3K27me3 ← *EZH2 & ASXL1*
- Promoteur de gènes actifs • H3K79me ← *DOT1L*
- Chromatine ouverte • H3K9ac
- Chromatine fermée • H3K9me
- Chromatine fermée • H3K9me3

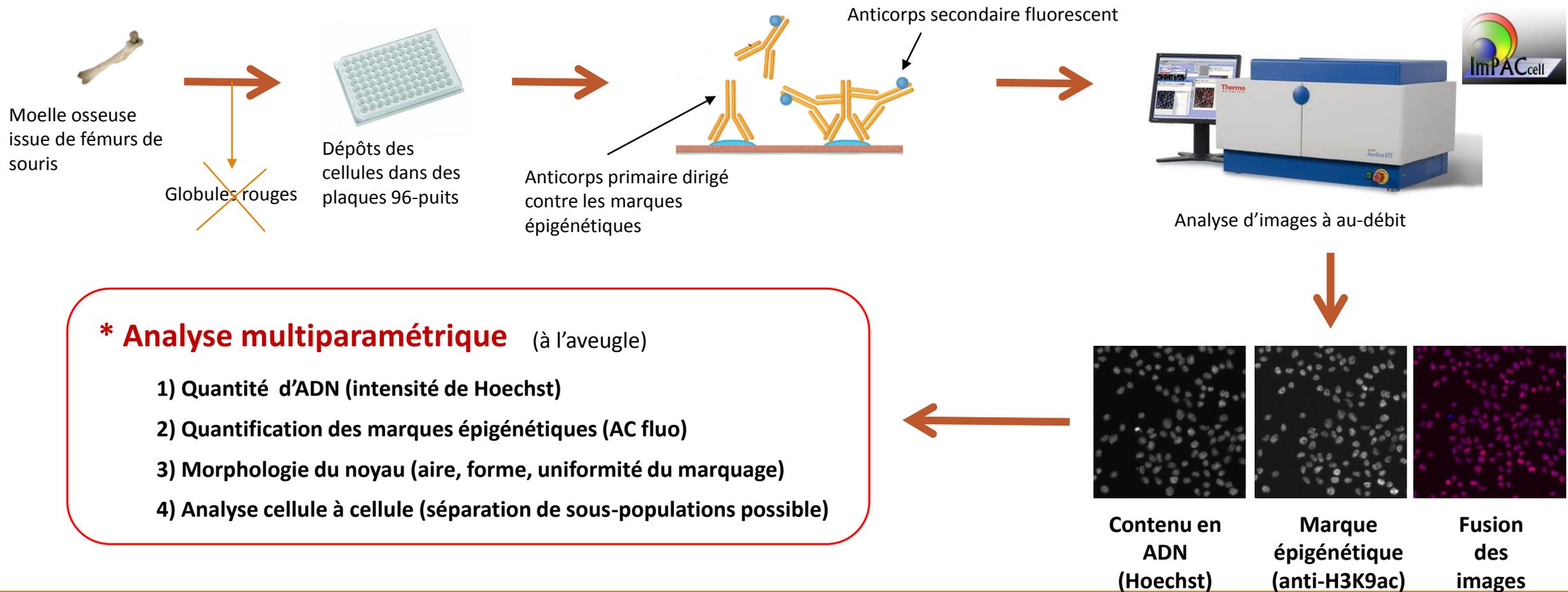
2) Modifications de l'ADN



- Chromatine fermée • 5mc ← *DNMT3A*
- Promoteur de gènes actifs & demethylation active • 5hmc ← *TET2*
- Domage à l'ADN • 8OHdG

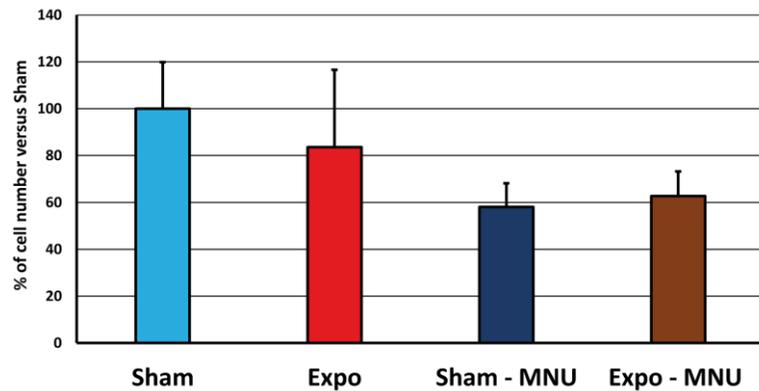
Exemple de mutations trouvées dans certaines types de leucémie et leurs associations avec des modifications épigénétiques

Détection des marques épigénétique par immunofluorescence

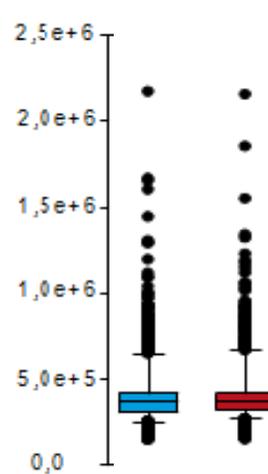


Effet de l'exposition sur la population cellulaire de moelle osseuse

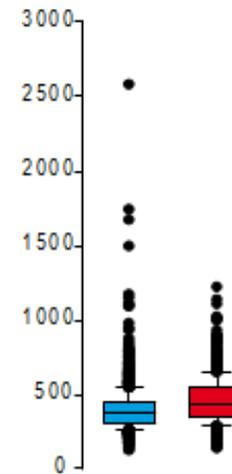
1) Nombre de cellules



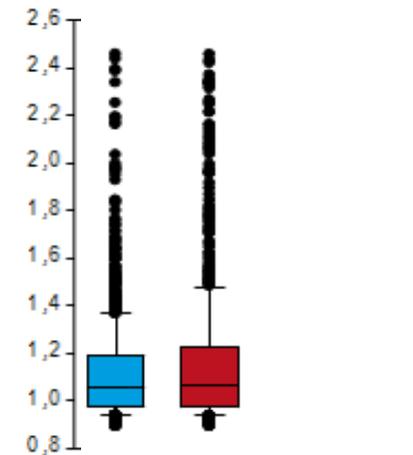
2) Quantité d'ADN



3) Aire du noyau



4) Forme du noyau

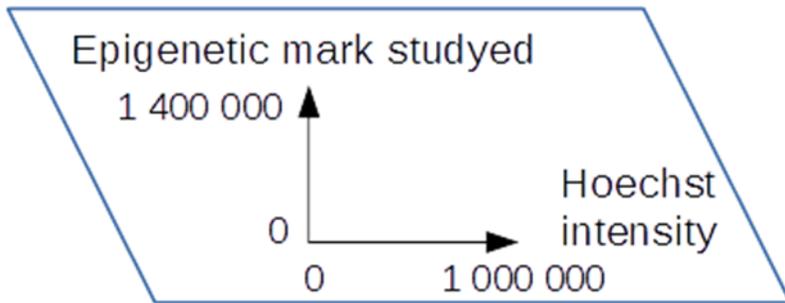


Pas de modification du nombre de cellules
 Pas d'apparition de leucémies dans les souris
 traitées

■ Sham
 ■ Expo (50 Hz – 1 mT)

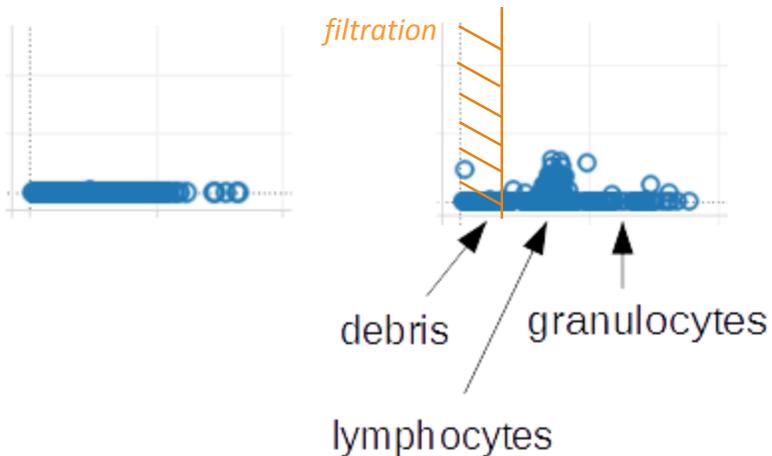


Effets globaux de l'exposition sur les marques épigénétiques

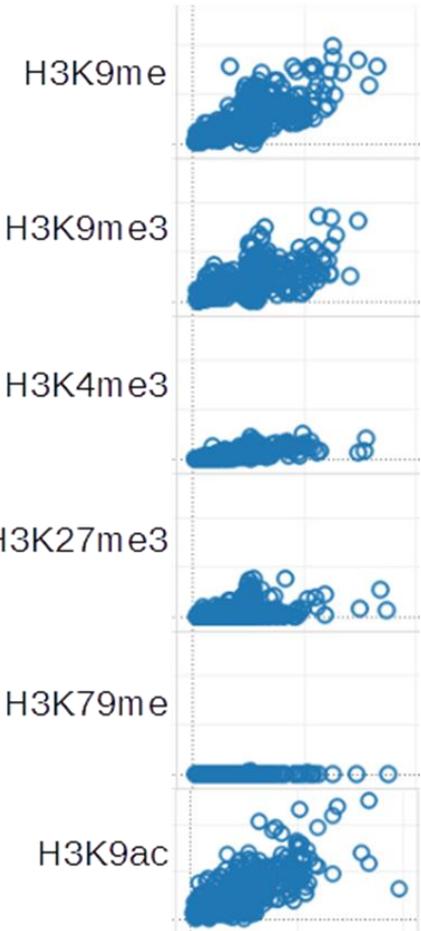


Aspecific binding

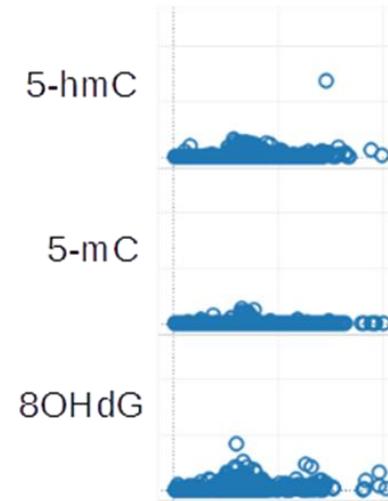
Sous-populations cellulaires



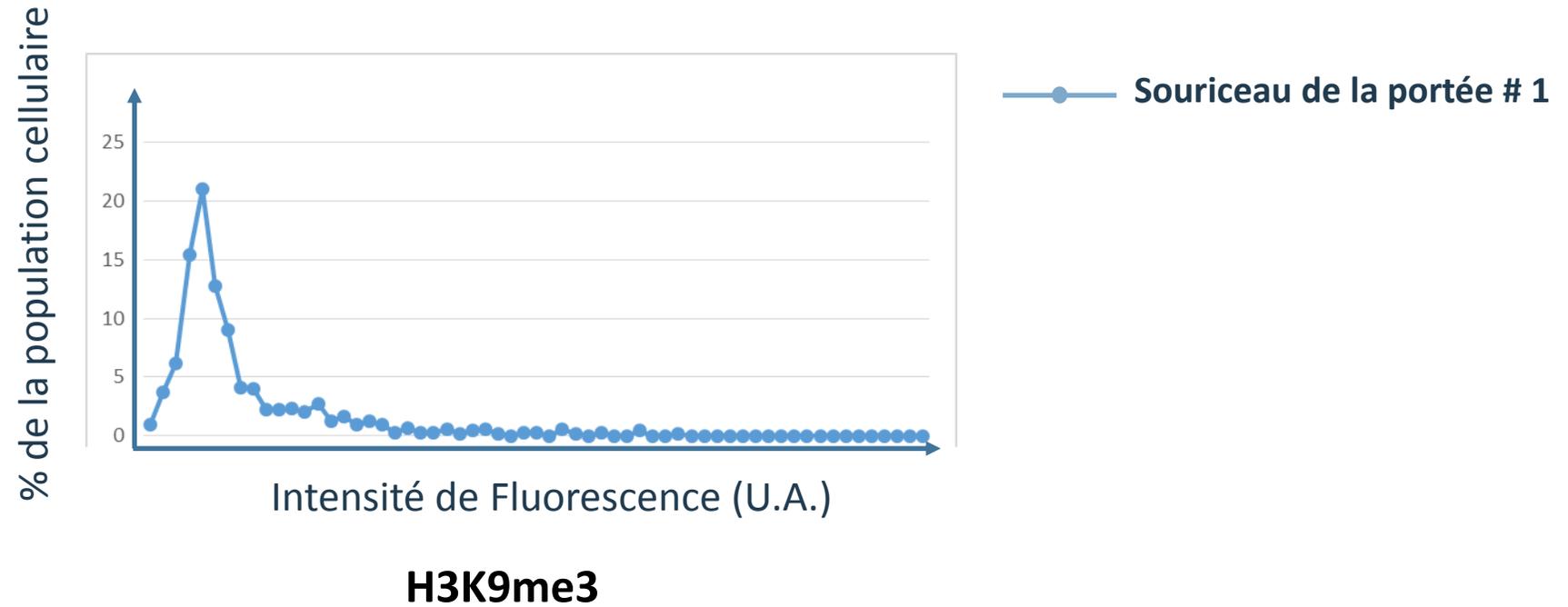
1) Modifications d'histone



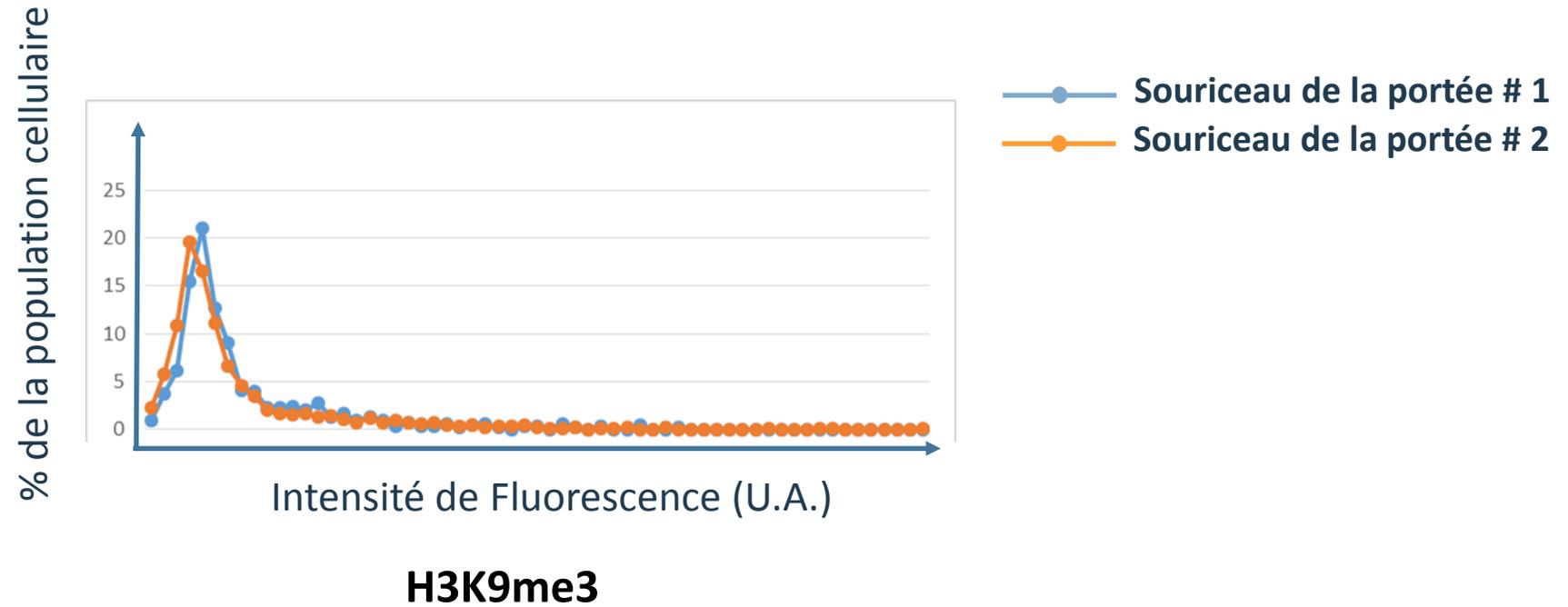
2) Modifications de l'ADN



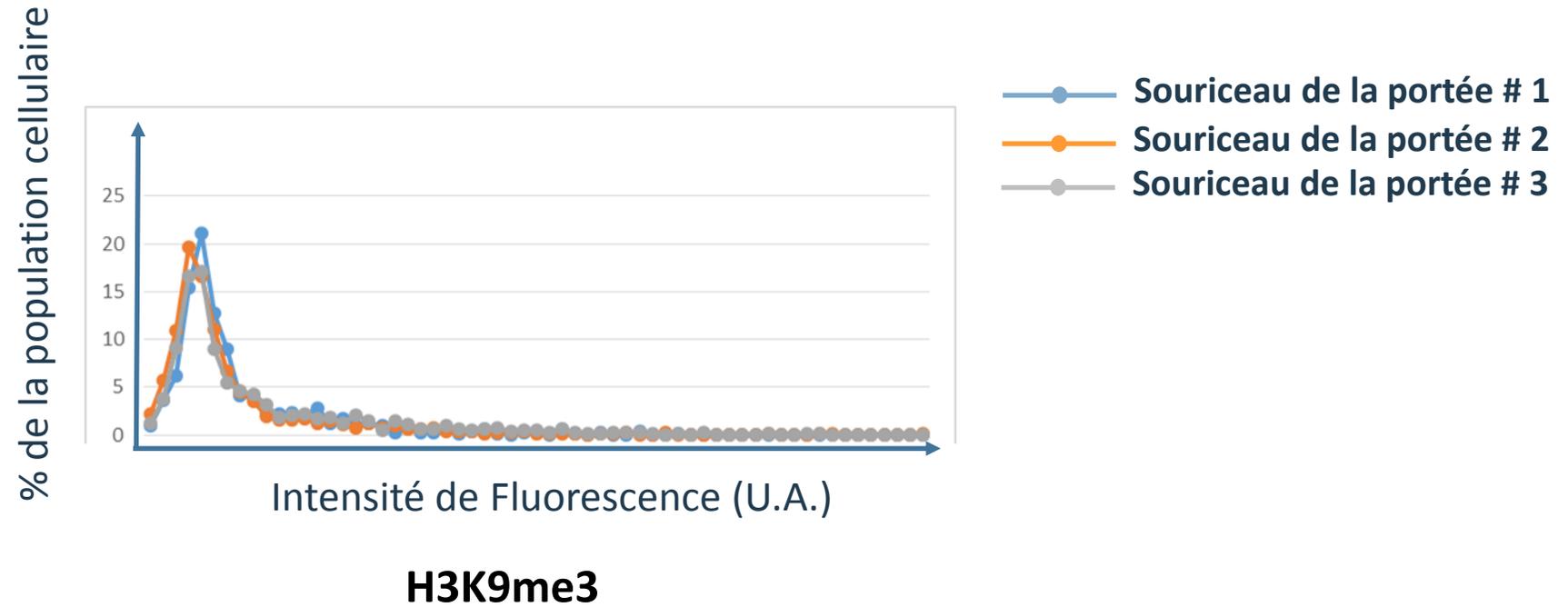
Etude de la distribution des cellules



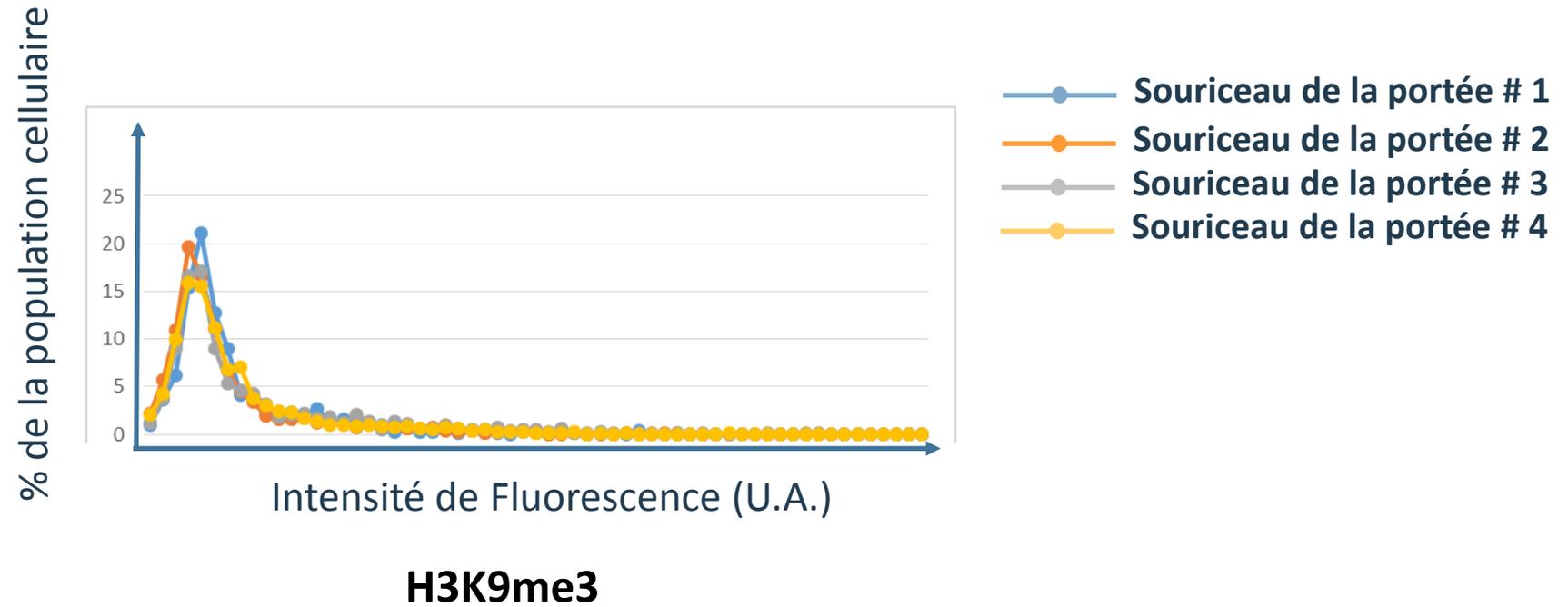
Etude de la distribution des cellules



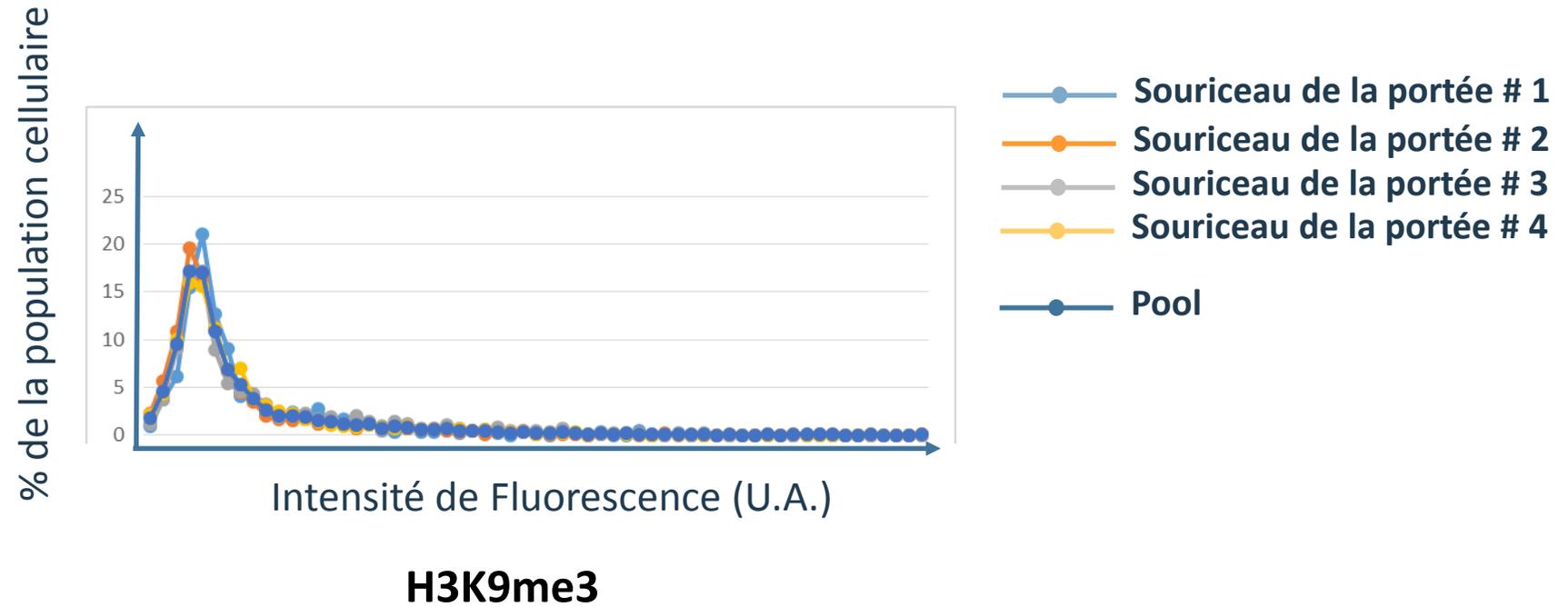
Etude de la distribution des cellules



Etude de la distribution des cellules

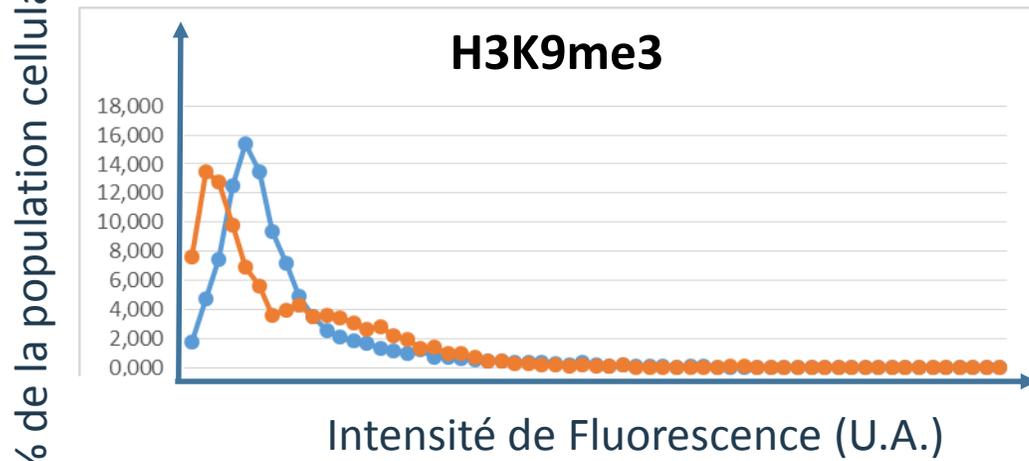


Etude de la distribution des cellules

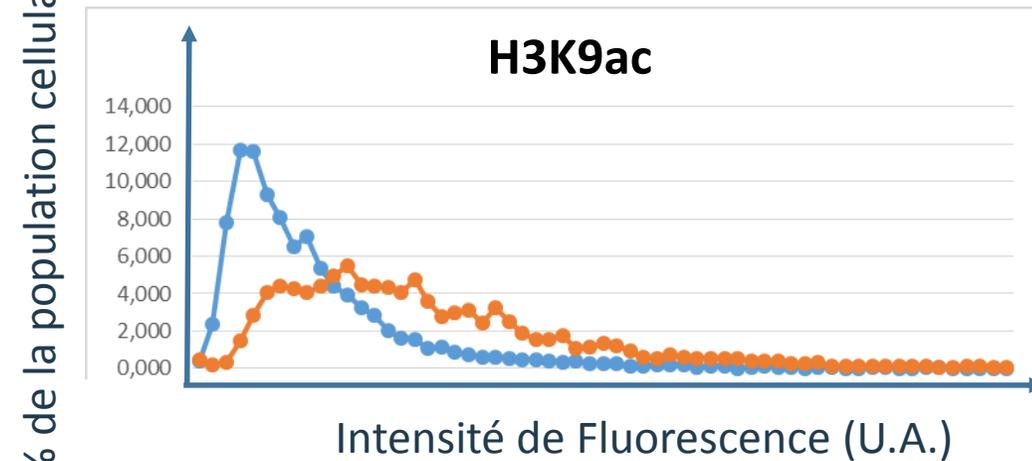


Contrôle positif – Traitement au MNU

Décalage ←
Le traitement au MNU diminue le signal des marques de chromatine fermée

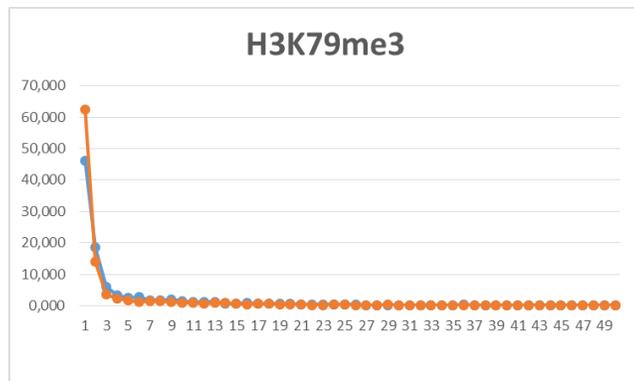
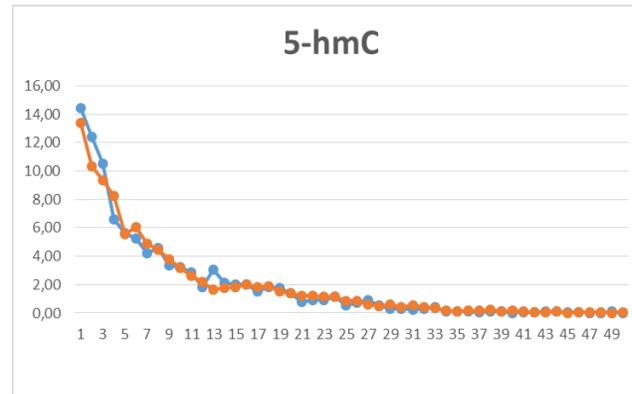
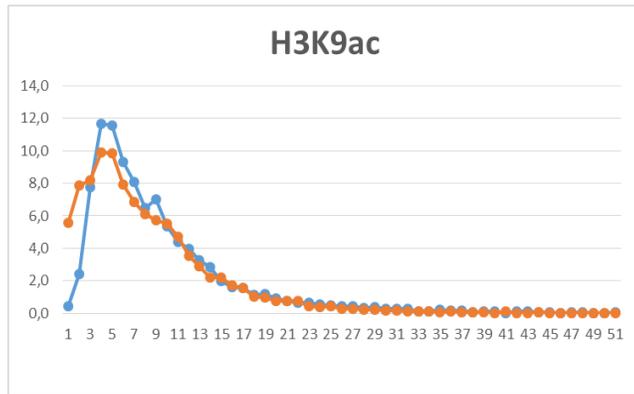


Décalage →
Le traitement au MNU augmente le signal des marques de chromatine ouverte



—●— contrôle
—●— MNU

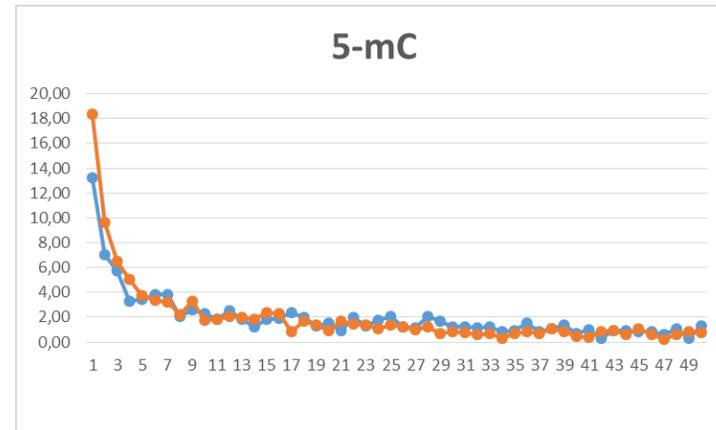
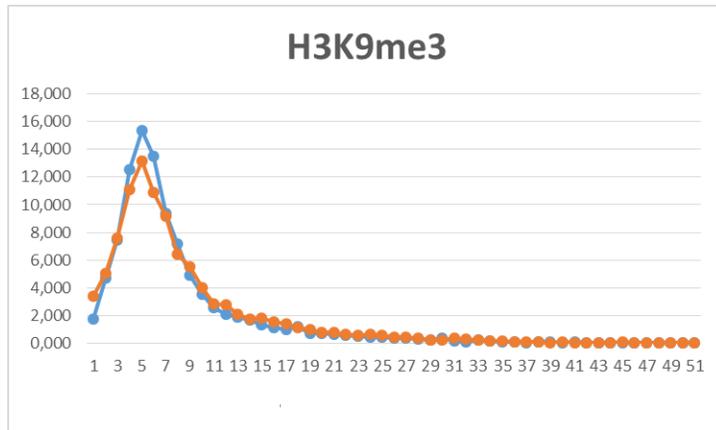
Effet de l'exposition sur les marques de chromatine actives



Une série
d'exposition
représentative

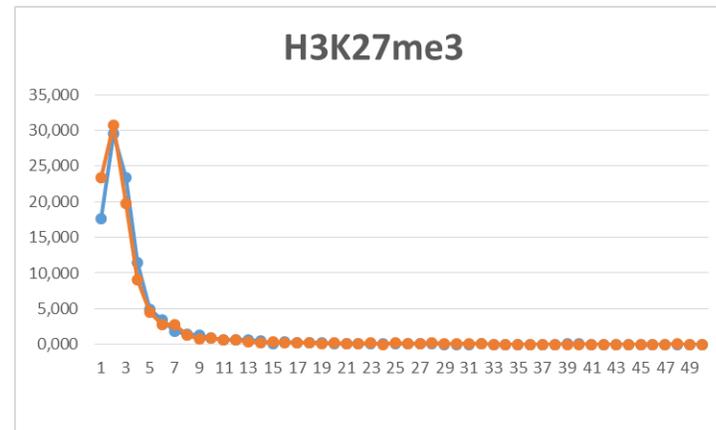
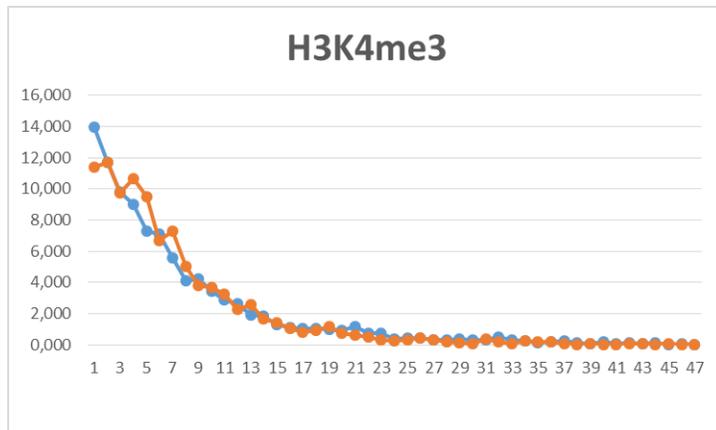
—●— Sham
—●— 50 Hz – 1 mT

Effet de l'exposition sur les marques de chromatine inactives



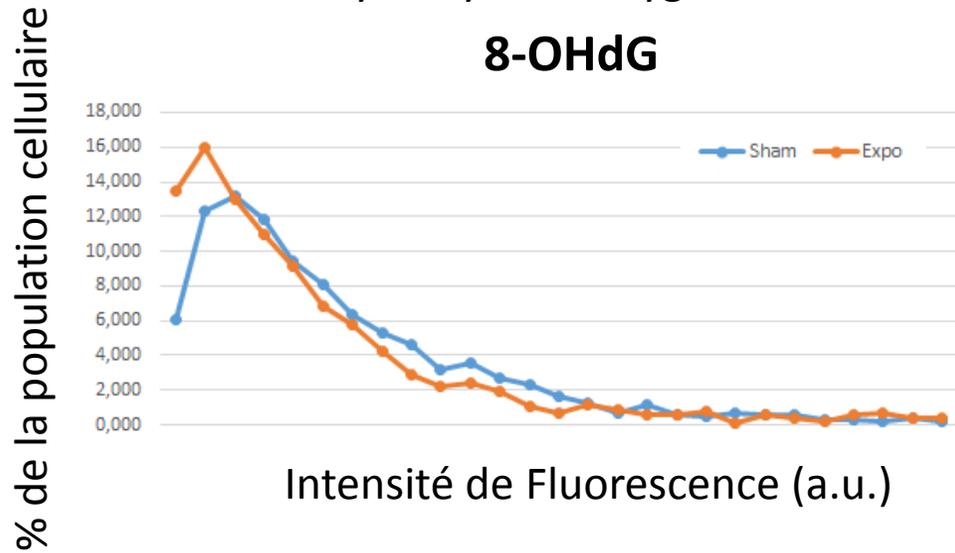
Une série d'exposition représentative

—●— Sham
—●— 50 Hz – 1 mT



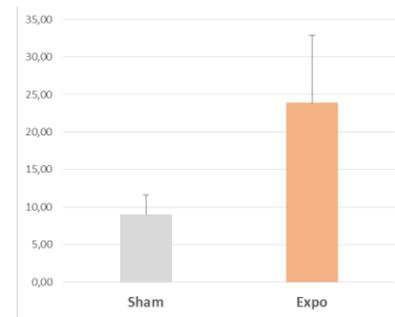
Effet de l'exposition sur l'oxydation de l'ADN

8-hydroxy-2'-deoxyguanosine
8-OHdG

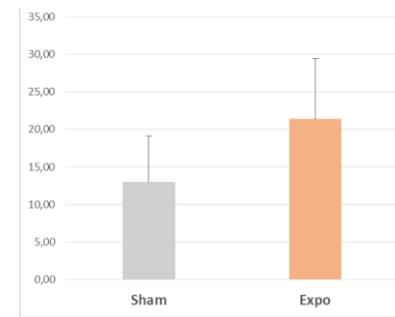


% de cellules ayant une faible intensité de marquage/ échantillon

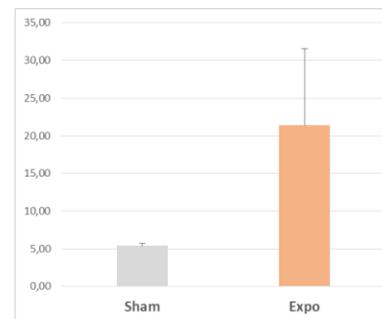
1ere série d'exposition



2nd série d'exposition



3ieme série d'exposition



Séries 4
5
6



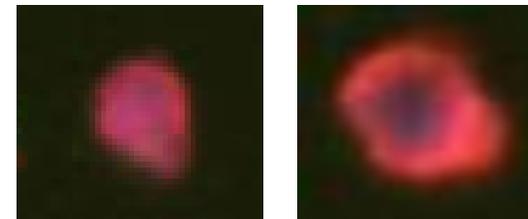
Conclusions & perspectives

- Les données de 10 marques épigénétiques sur 225 animaux ont été collectés
- Cela correspond à plus de 108 800 photos contenant entre 20 - 50 cellules chacune.
- Soit 5 millions de données de fluorescence à analyser

→ Les résultats finaux sont attendus pour la fin de 2017

- Les effets de l'exposition sur l'oxydation de l'ADN doivent être confirmés sur les autres séries.
- L'exposition seule ne modifie pas globalement les marques épigénétiques
 - > nous devons encore vérifier ces résultats dans les différentes sous-populations cellulaires (lymphocytes vs granulocytes)

-> analyser l'uniformité du signal



Collaborateurs impliqués dans le projet Cleman et organisme financeur



École Pratique
des Hautes Études



**Denis Habauzit
Catherine Martin
Yves Le Dréan.**

**Florence Poulletier de Gannes
Emmanuelle Poque-Haro
Annabelle Hurtier
Isabelle Lagroye**

Remy le Guevel

Ce projet est financé par le programme ITMO Cancer
(Projet CLeMan, convention n° ENV201310)

Questions ?



THANK YOU
for your
ATTENTION!

Ce projet est financé par le programme ITMO Cancer
(Projet CLeMan, convention n° ENV201310)