

EXPOSITION AUX BASSES FREQUENCES ET LEUCEMIE CHEZ L'ENFANT : L'EPIGENETIQUE EST-ELLE IMPLIQUEE ?

**Denis Habauzit¹, Catherine Martin¹, Florence Poullétier de Gannes²,
Emmanuelle Poque-Haro², Annabelle Hurtier², Isabelle Lagroye² & Yves
Le Dréan^{1*}.**

¹ Equipe Transcription, Environnement et Cancer. Institut de Recherche sur la Santé, l'Environnement et le Travail (IRSET), Inserm UMR1085. Université de Rennes 1, France.

² Equipe Bioélectromagnétisme. Laboratoire d'Intégration du Matériau au Système (IMS), UMR CNRS 5218. Université de Bordeaux, Talence, France

Introduction

Plusieurs études épidémiologiques ont établi un lien possible entre une exposition chronique aux champs électromagnétiques de basses fréquences et l'apparition de leucémie infantile. Cependant aucun mécanisme moléculaire n'a, jusqu'à maintenant, permis d'établir un lien de cause à effet [1]. Afin d'explorer certaines pistes mécanistiques inexplorées, notre consortium a mis en place le projet CLeMAN (*Childhood Leukaemia and Magnetic Fields*).

La leucémie infantile (de type leucémie aiguë lymphoblastique) n'a pas de cause connue unique, mais résulterait plutôt d'une combinaison de facteurs où l'environnement et l'instabilité génétique seraient prépondérants. Dans ce type de cancer, des mutations somatiques récurrentes ont été caractérisées pour trois classes de gènes. Le premier groupe de gènes est impliqué dans les voies de signalisation liées à la prolifération cellulaire. Le deuxième groupe contient des gènes plutôt en relation avec la myélopoïèse. Enfin le dernier groupe présente des gènes codant des régulateurs épigénétiques. L'existence de ce dernier groupe suggère que des défauts dans les mécanismes de régulation épigénétique seraient impliqués dans l'émergence de cette pathologie. Autre point important, les marques épigénétiques ne sont pas figées au cours de la vie de la cellule, et elles peuvent être modifiées par l'environnement au sens large (signalisation cellulaire, alimentation, exposition à des polluants). Dans ce contexte, nous avons voulu vérifier si une exposition prolongée à des ondes basses fréquences de 50 Hz, ne pouvait pas avoir un impact sur le marquage épigénétique des cellules de la moelle osseuse chez la souris, et ainsi favoriser l'apparition de leucémie.

Matériels et méthodes

Des souris hybrides, issues du croisement de mâles DBA2 et de femelles C57Bl/6, ont été utilisées lors de cette étude. Les animaux ont été élevés et manipulés suivant les procédures éthiques recommandées par la législation française et le projet a été approuvé par le comité d'éthique de l'Université de Bordeaux (DIR 1371).

Le système d'exposition a été décrit dans une précédente étude [2]. Ce dernier est composé de 2 bobines de Merritt qui génèrent un champ magnétique vertical uniforme de 1 mT et 50 Hz à l'intérieur des cages. Les animaux ont été exposés 8 heures/jour, 5 jours/semaine, de la conception à la maturité sexuelle (de E 0,5 à 8 semaines post-natales).

Un groupe de souris exposées de manière factice (Sham) sert de contrôle. Après leur naissance, les souriceaux sont exposés avec leur mère jusqu'au sevrage. Dans tous les cas, les animaux ont été laissés libres de leur mouvement.

En guise de contrôle positif, 2 conditions expérimentales supplémentaires ont été ajoutées à l'étude. Certains souriceaux ont été traités au N-méthyl-N-nitrouée (MNU, 10 mg/kg), un produit mutagène et cancérigène connu, alors que d'autres animaux sont issus du croisement de femelles C57Bl/6 classiques et de mâles DBA2 préalablement irradiés aux rayons X (1 Gy), ce traitement favorisant l'instabilité génomique de la descendance [3].

Après exposition, les souris ont été sacrifiées et les cellules de moelle osseuse ont été prélevées. Elles ont ensuite été fixées au paraformaldehyde à 4%, puis des immunocytochimies (ICC) ont été réalisées en utilisant des anticorps primaires reconnaissant spécifiquement certaines modifications post-traductionnelles de l'histone-3, ou des méthylation de l'ADN. Grâce à une approche d'analyse d'images en semi-haut débit, nous avons pu analyser en parallèle 10 marqueurs épigénétiques différents.

Résultats

Actuellement, les échantillons issus de trois campagnes d'exposition indépendantes ont été marqués par ICC. La fluorescence de chaque cellule a ensuite été quantifiée individuellement grâce à un microscope à fluorescence automatisé, couplé à une caméra haute résolution. De façon à éviter toute subjectivité dans notre étude, nous avons réalisé les ICC et les quantifications en aveugle. Les données obtenues sont en cours de traitement et les résultats finaux seront présentés au cours de l'exposé. Les niveaux de fluorescence moyens seront comparés pour chaque condition. L'analyse cellule-à-cellule que nous avons réalisée permettra aussi d'analyser la distribution de la fluorescence au sein de la population cellulaire. Nous espérons que cette approche novatrice d'analyse multiparamétrique d'images pourra nous révéler de l'information cachée que nous ne pourrions pas détecter par des méthodes classiques de biochimie ou de génomique. Cette information serait par exemple, l'existence de modifications épigénétiques rares et isolés au sein de la population cellulaire constituant notre échantillon.

Références

- [1] Lagroye *et al.*, (2011). ELF magnetic fields: animal studies, mechanisms of action. *Prog Biophys Mol Biol.* 107(3):369-73.
- [2] Poulletier de Gannes *et al.*, (2009). Amyotrophic lateral sclerosis (ALS) and extremely-low frequency (ELF) magnetic fields: a study in the SOD-1 transgenic mouse model. *Amyotroph Lateral Scler.* 10(5-6):370-3.
- [3] Lord *et al.*, (1998) Induction of lympho-haemopoietic malignancy: impact of preconception paternal irradiation. *Int J Radiat Biol.* 74(6):721-8.