DU METABOLOME A L'EPIGENOME : EXEMPLE D'ETUDE MULTIOMIQUE SUR LES EFFETS DES EXPOSITIONS A FAIBLES DOSES D'URANIUM

Stephane Grison, Maamar Souidi

► To cite this version:

Stephane Grison, Maamar Souidi. DU METABOLOME A L'EPIGENOME : EXEMPLE D'ETUDE MULTIOMIQUE SUR LES EFFETS DES EXPOSITIONS A FAIBLES DOSES D'URANIUM. *Environnement, Risques & Santé*, 2020, 19 (5), pp.339-345. 10.1684/ers.2020.1472 . hal-03202428

HAL Id: hal-03202428

<https://hal.science/hal-03202428>

Submitted on 19 Apr 2021

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.

**Du métabolome à l'épigénome : exemple d'étude
multiomique sur les effets des expositions à faibles doses
d'uranium.**

**From metabolome to epigenome: example of multiscale
analysis to study the effects of low dose exposure to
uranium**

Stéphane Grison* et Maâmar Soudi

Institut de Radioprotection et de Sûreté Nucléaire, PSE-SANTE, F 92262 Fontenay-aux-

Roses Cedex France

*** Auteur de correspondance :**

Stéphane Grison

Institut de Radioprotection et de Sûreté Nucléaire (IRSN), PRP-HOM/SRBE/ LRTOX, F-

92262

Fontenay-aux-Roses CEDEX, France

Phone: 01.58.35.91.23

Fax: 01.58.35.84.67

E-mail : stephane.grison@irsn.fr

20 **RESUME**

21 Pour étudier les effets biologiques des expositions chroniques à faibles doses d'uranium
22 auxquelles les populations humaines peuvent être exposées, un protocole *in vivo* d'exposition
23 chronique à l'uranium de rats (mâles et femelles) a été élaboré et des analyses omiques ont été
24 réalisées en complément d'un suivi clinique classique. Les analyses métabolomiques ont
25 révélé l'existence d'un dimorphisme sexuel observable au niveau des reins, des urines et du
26 plasma chez les animaux contaminés. Elles ont aussi montré que les métabolismes les plus
27 affectés par l'uranium étaient ceux du nicotinate-nicotinamide et de la biosynthèse des acides
28 gras insaturés. Plus en amont, l'analyse du transcriptome des reins a aussi permis de mettre en
29 évidence des effets géniques et épigénétiques de l'uranium. Au niveau épigénétique, une
30 hyperméthylation de l'ADN des reins a été observée sur deux générations de mâles nés de
31 femelles exposées durant la gestation (alors que les profils de méthylation des reins des
32 femelles n'étaient quant à eux pas modifiés). Une analyse multiomique réalisée à partir de
33 l'ensemble des résultats d'analyses métabolomiques et transcriptomiques, met en évidence de
34 nouvelles voies moléculaires associées aux effets de l'uranium. Ces analyses multiéchelles
35 pourraient être utiles et pertinentes pour décrypter les mécanismes d'action des expositions
36 chroniques à faibles doses d'uranium. Ces études mettent aussi en évidence l'importance du
37 sexe dans l'estimation des sensibilités individuelles aux faibles doses, et attirent l'attention sur
38 la nécessité de prendre en compte cette composante génétique en matière d'évaluation des
39 risques.

40 **MOTS CLES**

41 Uranium, faibles doses, omiques, épigénétique

ABSTRACT

To study the biological effects of chronic exposures to low doses of uranium to which human populations may be exposed, an *in vivo* protocol of chronic exposure to uranium has been developed and omics analysis have been performed in addition to conventional clinical monitoring. Metabolomics analysis revealed the existence of an observable sexual dimorphism in the kidneys, urine and blood plasma in exposed animals. They also showed that the most affected metabolism was the nicotinate-nicotinamide one and the biosynthesis of unsaturated fatty acids. Upstream of the metabolism, transcriptomics analyses of kidney revealed genetic and epigenetic responses to uranium. At the epigenetic level, analysis of kidney DNA methylation revealed an increase of DNA methylation for two generations of male born to an exposed pregnant female (while DNA methylation of female kidney were not affected). Molecular links were established from omics data between genes expressions to metabolism profiles of exposed rats. These multi-scale analyses could be relevant to decrypt the biological mechanisms of low-dose exposures. Finally, these results highlight the importance of gender in estimating sensitivity to low doses exposure and draw attention to the need to take this component into account in risk assessment.

KEY WORDS

Uranium, low doses, omics, epigenetics

INTRODUCTION

Les radionucléides sont des isotopes radioactifs d'éléments atomiques. A la vingtaine de radionucléides naturellement présents dans la croûte terrestre, viennent s'ajouter des radionucléides créés dans la haute atmosphère, sous l'effet des rayons cosmiques et des radionucléides d'origines anthropiques susceptibles d'être dispersés dans l'environnement par des rejets liés à l'industrie nucléaire, à des accidents d'installations nucléaires ou liés à l'usage d'armements nucléaires [1]. Ces radionucléides peuvent être sources de pollutions environnementales et associés à des problématiques sanitaires concernant les travailleurs et les populations. Dans ce contexte, l'usage civil et militaire de l'uranium suscite aussi certaines questions car bien qu'il soit naturellement présent dans l'ensemble de la biosphère, ses niveaux de concentration peuvent sensiblement varier selon la zone géographique considérée et l'exploitation qui en est faite (énergie, armement).

L'uranium

L'uranium a été découvert en 1789 par le chimiste allemand Martin Heinrich Klaproth et ses propriétés radioactives ont été mises en évidence en 1896 par le physicien français Henri Becquerel. Il est présent dans la croûte terrestre à plus ou moins forte concentration ($\sim 0.5 \text{ mg.kg}^{-1}$ dans les bassins sédimentaires et $\sim 10000 \text{ mg.kg}^{-1}$ au niveau des gisements uranifères). En Europe, sa concentration médiane dans les sols est estimée à 2 mg.kg^{-1} [2]. Dans les eaux souterraines, cette concentration est comprise entre 0.1 et $3300 \text{ }\mu\text{g.L}^{-1}$. De masse volumique égale à 19 g.cm^{-3} et de numéro atomique 92, il fait partie de la famille chimique des actinides. C'est un métal lourd dont les isotopes sont tous radioactifs (la période radioactive des isotopes variant de plusieurs centaines de millions à plusieurs milliards d'années). Les principaux radio-isotopes de l'uranium sont l'uranium-234, 235 et 238. À l'état naturel l' ^{238}U représente 99,275 % de la masse du minerai extrait contre 0.719 % pour l'isotope ^{235}U et 0.0057 % pour le ^{234}U . L' ^{235}U est l'isotope le plus énergétique (il est fissile). Après raffinement du minerai

naturel, l'uranium sera principalement utilisé comme combustible dans les industries électronucléaires (3 à 5 %) et militaires (80 à 90 %) [3, 4]. L'uranium possède à la fois une toxicité radiologique (émetteur de particules alpha) et une toxicité chimique (métal lourd > 5g.cm^{-3}) dont les niveaux respectifs varient selon le niveau d'enrichissement en ^{235}U [4-6]. Les formes appauvries et naturelles sont principalement chimiotoxiques alors que les formes enrichies en ^{235}U sont radiotoxiques.

Pollutions environnementales et sources d'exposition chroniques à faibles doses

Le niveau de diffusion de l'uranium dans l'environnement (sols et organismes vivants) dépend essentiellement de son niveau d'oxydation mais aussi des complexes qu'il peut former avec la matière organique. Il est très mobile sous sa forme soluble d'ion uranyle (UO_2^{2+}). Soluble dans les eaux de surface, il peut se retrouver sous forme hydroxylée pour des pH supérieurs à 6 ou carbonatée au-delà de pH 8. Il peut aussi facilement se complexer aux ions carbonates et sulfates avec lesquels il crée des zones d'accumulation dans les sols et peut se lier à des molécules organiques comme les protéines. En milieu biologique, l'uranium se trouve sous la forme d'ion uranyle. Dans les végétaux, sa teneur est étroitement liée à la nature des plantes et aux teneurs en phosphates, sulfates, carbonates et matières organiques des sols. Chez l'homme, l'absorption quotidienne liée à l'ingestion de produits alimentaires et de l'eau de boisson est estimée entre 1 et $4\text{ }\mu\text{g.j}^{-1}$ [7]. Le corps humain contient naturellement environ $90\text{ }\mu\text{g}$ d'uranium provenant de l'eau et de l'alimentation [8].

En 1945, la France a choisi de développer sa production électronucléaire pour accroître son indépendance énergétique (au regard des énergies fossiles) et militaire. L'industrie nucléaire est devenue progressivement la principale source d'énergie électrique (70 % des sources de production d'électricité). Pour arriver à ce niveau de production, un peu plus de 200 sites miniers ont été exploités sur le territoire national et 58 réacteurs électronucléaires sont actuellement en cours d'exploitation [9]. Or, comme toutes industries, l'industrie nucléaire est

potentiellement une source de pollutions environnementales. Ces pollutions peuvent se concentrer autour des sites miniers [10], dans les zones de raffinage du minerai, de traitement du combustible usagé, de stockage des déchets mais aussi sur des sites d'essais militaires et zones de guerre ayant fait appel à l'utilisation de munitions blindées à l'uranium appauvri (massivement utilisées pendant la guerre du Golfe et celle des Balkans) [11]. D'autres activités industrielles comme les centrales thermiques à charbon peuvent aussi être des sources de pollution à l'uranium que l'on retrouve concentré dans les poussières de cendres. Enfin, l'emploi des engrais phosphatés, auxquels l'uranium se complexe fortement, est aussi un facteur de concentration et de dispersions environnementales d'uranium (environ $1 \text{ mg} \cdot \text{m}^{-2}$ pour une utilisation de 100 kg d'engrais par hectare par an).

Ainsi, l'uranium peut être considéré comme une source potentielle d'exposition chronique des populations vivant dans, ou aux abords des sites les plus pollués. Ses propriétés radiotoxiques et chimiotoxiques posent certaines questions d'ordre sociétales et scientifiques quant à son utilisation et son impact à faibles doses sur l'environnement et la santé de populations.

Toxicité et aspects sanitaires des expositions environnementales

En cas de contamination interne, l'uranium passe dans la circulation sanguine en plus ou moins grande proportion selon sa voie d'entrée dans l'organisme (ingestion, inhalation, blessure cutanée). Il est ensuite très rapidement distribué vers différents tissus biologiques avant d'être éliminé dans l'urine. Environ 60 % de la quantité présente dans la circulation sanguine sera excrétée en 24 heures alors que les 40 % restants seront retenus dans les tissus avant d'être progressivement excrétés dans les urines. L'uranium est principalement retenu au niveau des os (10 à 36 %) et des reins (10 à 25 %) et cette rétention en fait les deux principales cibles biologiques de la toxicité de l'uranium [12]. Sa toxicité dépend de sa composition isotopique, de la quantité incorporée (dose) et de son temps de rétention dans l'organisme [3, 13, 14]. Le rapport isotopique de l'uranium influe sur l'activité radioactive de

137 l'uranium et sur sa radiotoxicité (uranium enrichi > uranium naturel > uranium appauvri).
138 D'un point de vue radiobiologique, l'émission de particules alpha entraîne des cassures de la
139 molécule d'ADN [15] et la formation d'espèces réactives oxygénées fortement oxydantes
140 (O_2^- , $HO^\cdot$, H_2O_2), sources d'instabilité génique et de stress oxydant pour les cellules [16].
141 L'uranium est aussi un métal lourd et une source de stress oxydant pour les cellules.

142 La toxicocinétique de l'uranium dépendra de sa voie de pénétration dans l'organisme
143 (pulmonaire, transcutanée ou intestinale) mais aussi de son niveau de solubilité dans
144 l'organisme. Celui-ci étant étroitement lié à sa forme physicochimique (UF_6 , UO_2F_2 et
145 $UO_2(NO_3)_2 > UO_3$, UF_4 et $UCl_4 > UO_2$ et U_3O_8) [17]. D'autres paramètres endogènes tels que
146 l'âge des individus (le taux d'absorption intestinal de l'uranium 20 à 100 fois supérieur chez
147 le nouveau-né (0-1 an) que chez l'adulte) [18], le sexe (taux d'excrétion rénale chez le mâle
148 supérieur à celui mesuré expérimentalement chez la femelle) [19] mais aussi l'espèce (lapin <
149 souris-rat < hamster < chien < babouin < humain [20]), influenceront sur son niveau de toxicité.

150 Or, si la toxicité de l'uranium est actuellement très bien documentée à forte dose, elle l'est
151 beaucoup moins dans la gamme des faibles doses pour lesquels l'estimation d'un niveau de
152 risque sanitaire n'est pas encore établie. A ce sujet, certaines études épidémiologiques menées
153 sur des populations exposées à faibles doses d'uranium s'avèrent contradictoires [21-24]. En
154 effet, à ces faibles niveaux d'exposition, l'interprétation des effets biologiques observés se
155 heurtent à l'influence de nombreux paramètres physiques et biologiques (de natures
156 endogènes ou exogènes) qui interfèrent avec ceux de l'uranium. Impactées par ces nombreux
157 facteurs de confusion, les résultats de ces études manquent de puissance statistique (taille
158 insuffisante des cohortes suivies). Ils ne permettent ni de mettre en évidence un lien de
159 causalité entre l'exposition environnementale à l'uranium et l'augmentation de la fréquence
160 d'apparition de certaines maladies [25], ni de conclure en matière de risque sanitaire [23, 26-
161 28].

162 L'estimation du risque d'une exposition nécessite d'avoir préalablement pu identifier des
163 indicateurs physiques ou biologiques attestant d'un dérèglement métabolique ou
164 physiologique associé à celle-ci. Ces indicateurs pourront ensuite être utilisés comme les
165 senseurs prédictifs d'un risque d'effets indésirables.

166 Lorsqu'on s'intéresse aux effets des expositions environnementales, on observe que les
167 niveaux de doses délivrées aux cellules n'entraînent pas forcément d'effets biologiques
168 significatifs et encore moins d'effets délétères. Dans ce contexte, l'emploi de techniques
169 analytiques très sensibles qui permettent de mesurer simultanément un très grand nombre de
170 paramètres biologiques devient un atout majeur [29]. L'apport d'un volume considérable de
171 données scientifiques pourra apporter la puissance statistique manquante aux études
172 épidémiologiques [30] et être utiles à l'évaluation des risques et à l'évolution des normes de
173 radioprotection.

174 **STRATEGIE EXPERIMENTALE**

175 **Intérêt des approches Omiques**

176 Dans la gamme des faibles doses, l'observation d'effets biologiques s'avère complexe car ces
177 effets sont de faibles amplitudes [31], influencés par de nombreux facteurs de confondants et
178 impactés par la dynamique temporelle des réactions biochimiques (métabolismes), elles-
179 mêmes régulées par l'activité génique [32].

180 Face à cette difficulté, il s'avère indispensable de mettre en œuvre des stratégies analytiques
181 innovantes suffisamment sensibles et spécifiques pour observer un système biologique dans sa
182 globalité et identifier les prémices d'un effet biologique indésirable voire d'un effet prédictif
183 d'un risque accru de dysfonctionnements ou d'apparition d'une maladie tardive. Néanmoins,
184 si aucune étude préclinique n'a permis de mettre en évidence la marque d'une toxicité à des
185 niveaux de doses d'exposition non néphrotoxiques, certaines d'entre elles, menées chez

l'animal, ont pu montrer que de faibles doses d'uranium avaient des effets sur des voies métaboliques impliquées dans des systèmes physiologiques majeurs de l'organisme [3, 33].

La métabolomique

Pour compléter ces données, une étude métabolomique (criblage de l'ensemble des métabolites mesurables dans milieu biologique) a été lancée par contamination chronique de rats à dose non-toxique d'uranium, pour en se plaçant à l'échelle du métabolome (considéré comme l'épreinte moléculaire du phénotypique d'un individu), en appréhender l'effet dans sa globalité. Les résultats ont montré qu'une contamination chronique à faible dose d'uranium (2 µg absorbé par jour pendant 9 mois), entraînait une modification significative du métabolome urinaire. 95 métabolites sur les 1376 détectées avaient un niveau de concentration différent chez les animaux exposés à l'uranium par rapport aux non-exposés [34]. Ces résultats ont montré que cette technique d'analyse à large spectre pouvait apporter des données complémentaires aux différentes études réalisées sur les effets des faibles doses d'uranium [3]. Un second protocole a ensuite été élaboré pour fournir la preuve de principe que la métabolomique était pertinente pour réaliser des études dans la gamme des faibles doses. Sachant que des relations dose-réponse non monotones (linéaires, non linéaires avec ou sans seuil) avaient été montrées expérimentalement [35, 36], il s'agissait d'étudier dans ce protocole d'étude, la relation dose-réponse associée au temps d'exposition à l'uranium pour rechercher les limites de sensibilité des rats à l'uranium. Finalement, dans le cadre de la recherche de marqueurs biologiques prédictifs ou précoces d'effets indésirables, cette approche permettait d'identifier les voies métaboliques susceptibles d'être significativement impactées par une exposition chronique à dose non toxique d'uranium [37].

Effet du temps, effet de la dose

Les rats ont été contaminés depuis leur naissance par ingestion d'uranium (via le lait maternel puis par de l'eau de boisson) pour en majorer l'effet [38]. La gamme de concentration

211 d'uranium utilisée en solution hydrique variait entre le double de la concentration maximale
212 mesurée dans une eau de source Finlandaise (40 mg.L^{-1}) [26] et la moitié de la concentration
213 recommandée par l'OMS comme limite de potabilité de l'eau de boisson ($0,015 \text{ mg.L}^{-1}$) [39].
214 Néanmoins, aucune des solutions n'était suffisamment concentrée pour être toxique chez le
215 rat. Des collectes d'urines ont été réalisées périodiquement après 3, 6 et 9 mois de
216 contamination et des biopsies d'organes ont été prélevées à la fin du protocole expérimental,
217 après 9 mois de contamination. Les urines des animaux ont été analysées par chromatographie
218 liquide couplée à la spectrométrie de masse et les données analytiques ont été traitées par
219 analyses statistiques multivariées.

220 Les résultats obtenus dans cette étude ont confirmé ceux de l'étude princeps (citée
221 précédemment) [34] et par la même occasion, la robustesse et la sensibilité de la
222 métabolomique. Ils ont montré que des animaux contaminés par une solution d'uranium très
223 faiblement concentrée (0.15 mg.L^{-1}) pouvaient être distingués des animaux non contaminés à
224 partir de leur métabolome urinaire. Ils ont aussi montré que les niveaux respectifs des
225 biomarqueurs identifiés fluctuaient suivant des relations dépendantes à la fois de la dose et du
226 temps d'exposition à l'uranium. Parmi l'ensemble des variables biologiques mesurées, 11
227 variables fluctuaient avec toutes les doses d'uranium testées et permettaient de discriminer les
228 animaux contaminés des non-contaminés et (**Figure 1**). Dans ce panel moléculaire, le N1-
229 méthylnicotinamide et le N1-méthyl-2-pyridone-5-carboxamide qui font tous les deux partie
230 de la voie du nicotinate-nicotinamide (métabolisme de la vitamine B3) ont été identifiés. Sur
231 ce dernier point, des études menées dans les années 70 et 80 sur l'insuffisance rénale, avaient
232 observé une accumulation du N1-méthylnicotinamide dans le cortex rénal, accompagnée
233 d'une diminution de sa clairance urinaire chez des rats ayant reçu une dose néphrotoxique
234 d'uranium [40, 41]. Une étude plus récente, a aussi fait un rapprochement entre la teneur
235 salivaire en N1-Méthyl-2-Pyridone-5-Carboxamide d'enfants koweitiens présentant une

236 surcharge pondérale, et leur potentielle exposition juvénile à l'uranium par usage de
237 munitions blindées durant la guerre de Golfe [25]. Dans ces différents cas, les études
238 indiquent que la voie du nicotinate-nicotinamide semble être une cible biologique de
239 l'uranium.

240 Pour pouvoir disposer d'un outil utile à l'évaluation du risque d'une exposition à faible dose
241 d'uranium, un prototype expérimental de test de diagnostic a pu être élaboré à partir des 11
242 marqueurs discriminant identifiés à toutes les doses d'uranium testées. A partir du modèle
243 statistique PLS (Partial Least Squares regression) établi à partir de ces 11 marqueurs, la valeur
244 d'un « score composite » a été calculée pour permettre d'identifier des animaux contaminés à
245 partir de leurs profils métabolomiques urinaires. Cette valeur de référence de test de
246 diagnostic d'exposition a été validée par la mesure d'une aire sous la courbe de ROC¹ (test de
247 sensibilité/spécificité) supérieure à 80 % [42].

248 L'analyse du métabolomique du tissu rénal des animaux contaminés à l'uranium, montre aussi
249 des différences significatives. L'étude comparative des profils urinaires et rénaux a là aussi
250 permis de confirmer l'existence de liens mécanistiques entre l'uranium et le métabolisme du
251 nicotinate-nicotinamide mais aussi avec celui de biosynthèse des acides gras insaturés. Ces
252 deux voies pourraient être des cibles métaboliques rénales de l'uranium. Parmi l'ensemble des
253 effets observés (urinaires et rénaux), certains sont aussi liés au sexe des animaux. Ce
254 dimorphisme sexuel est marqué dans les reins par 25 % des métabolites discriminants de
255 l'uranium qui sont spécifiques du sexe des animaux (75 % étant communs aux deux sexes). Il
256 est encore plus prononcé dans l'urine pour laquelle 80 % des métabolites discriminant sont
257 aussi spécifiques du sexe des animaux (seuls 20 % sont communs aux deux sexes).

¹ Receiver Operating Characteristic : terme anglo-saxon pour caractéristique de performance d'un test ou courbe de la sensibilité sur la spécificité. Elle se présente sous la forme d'une courbe qui donne le taux de vrais positifs en fonction du taux de faux positifs qui permet d'évaluer la fiabilité d'un test de diagnostic. On considère qu'un test est fiable lorsque l'aire sous la courbe dépasse 80%.

La transcriptomique

Des analyses portant sur l'étude des effets géniques d'une exposition à faible dose d'uranium ont été réalisées à partir des biopsies rénales. Ces analyses portent sur la mesure des effets transcriptionnels des ARNm et post-transcriptionnels des micro-ARNs (système majeur de régulation de l'expression génique) [43].

L'analyse transcriptomique des profils d'ARN messagers rénaux a révélé des niveaux d'expression géniques significativement différents chez les animaux contaminés par rapport aux animaux témoins. Ces différences s'observent pour l'essentiel au niveau des gènes impliqués dans les mécanismes de régulation génique, les processus de signalisation cellulaire, de structuration cellulaire, les processus développementaux, de prolifération cellulaire et d'apoptose. L'analyse des profils de micro-ARNs a montré une augmentation de l'activité régulatrice post-transcriptionnelle pour laquelle, 70 micro-ARNs différenciellement exprimés ont été identifiés chez les animaux contaminés [44]. Cette dernière observation confirme l'existence d'un effet génique de l'uranium au niveau des cellules rénales à cette dose d'exposition.

L'analyse multiomique

Les analyses multiomiques permettent à la fois d'appréhender le vivant dans son ensemble et dans sa complexité mécanistique. En réalisant une étude des relations existantes entre les différents niveaux moléculaires analysés (transcriptomique et métabolomique), il est possible d'accroître le niveau d'information et de qualifier plus finement les mécanismes d'action engagés par la cellule en réponse à un stress. Cette approche permet notamment de mettre en évidence une partie des mécanismes de régulation géniques et métaboliques qui contribuent à l'homéostasie d'un organisme [28] (**Figure 2**).

281 Dans le cadre des études menées par contamination chronique à dose non-toxique d'uranium
282 chez le rat, cette approche a pu montrer qu'une faible dose d'uranium pouvait agir au niveau
283 rénal, à différents niveaux moléculaires. Elle a révélé que différents métabolismes tels que le
284 métabolisme des acides gras (pour lequel une activité génique associée a pu aussi être
285 observée), le métabolisme du nicotinate-nicotinamide ou de la biosynthèse des acides gras
286 insaturés mais aussi celui du tryptophane, des glycosphingolipides, de l'acide arachidonique,
287 de l'aspartate et du glutamate et de la vitamine D étaient aussi impactés par l'uranium. Parmi
288 ces différents métabolismes, ceux du nicotinate-nicotinamide et de la biosynthèse des acides
289 gras insaturés ont été statistiquement identifiés comme les voies métaboliques les plus
290 impactées par l'uranium au niveau des reins.

291 **L'épigénétique**

292 L'épigénétique est un mécanisme réversible de régulation génique [45, 46]. Ce mécanisme
293 intervient dès les premiers stades du développement embryonnaire par inactivation du second
294 chromosome X présent chez les femelles puis lors de la différenciation des cellules souches
295 embryonnaires en cellules spécialisées. Ce mécanisme intervient aussi dans le processus
296 mitotique de transmission des caractères cellulaires propres aux fonctions physiologiques des
297 organes. L'épigénétique est impliquée dans l'ensemble des mécanismes cellulaires que sont la
298 transcription, la réparation, la réplication, la condensation de la chromatine, l'empreinte
299 parentale et le vieillissement. Il est aussi directement impliqué dans les mécanismes
300 cellulaires d'adaptation environnementale et dans l'évolution des espèces. Il peut aussi dans
301 certains cas, être à l'origine d'effets sanitaires indésirables [29, 47].

302 Parmi les différents systèmes de régulation capables d'activer ou d'inactiver l'expression d'un
303 gène, deux mécanismes sont directement liés à l'ADN. Le premier mécanisme existant chez
304 les vertébrés est la méthylation des cytosines de l'ADN (lorsqu'elles sont suivies d'une
305 guanine dans la séquence nucléotidique). La méthylation de l'ADN se produit essentiellement

306 au niveau des régions promotrices des gènes (situées en amont des gènes). Ce mécanisme
307 épigénétique majeur agit directement sur l'accessibilité des facteurs de transcription au niveau
308 des gènes et crée des épimutations qui ont pour rôle de réprimer l'expression des gènes [48].
309 Le second mécanisme est l'acétylation, la méthylation et la phosphorylation des histones qui,
310 contrôlant l'état de compaction de la chromatine, modifient aussi le niveau d'accessibilité des
311 facteurs de transcription aux gènes. Un troisième mode de régulation épigénétique se fait par
312 le biais des ARNs non codants tels que les micro-ARNs. Ces petits ARNs sont capables de
313 réprimer la traduction en agissant directement sur les ARN messagers.

314 Selon la littérature, différents facteurs de risques environnementaux sont capables d'agir sur le
315 système épigénétique et pourraient conduire à des effets indésirables ou à certaines maladies
316 comme le syndrome métabolique, les maladies neurodégénératives, les atteintes du système
317 reproducteur, des cancers, etc...

318 D'un point de vue sanitaire, l'implication de processus épigénétiques d'origines
319 environnementaux dans le développement de certaines formes pathologiques tardives
320 interroge de plus en plus la société [49]. A ce titre, des études menées chez l'homme ont
321 permis d'identifier un risque accru d'effets multigénérationnels par certaines expositions
322 chimiques lorsqu'elles surviennent durant certaines périodes développementales qui sont
323 étroitement liées aux phases de programmation épigénétique des cellules [50]. A partir de ces
324 données, des hypothèses scientifiques ont avancé l'idée que de tels effets auraient une origine
325 épigénétique et qu'ils seraient dus à des changements de profils de méthylation de l'ADN
326 [51]. Malgré un nombre insuffisant d'études sur ce sujet pour pouvoir conclure, les résultats
327 de ces quelques études soulèvent le débat et interrogent sur le niveau de risque sanitaire
328 attribuable aux expositions environnementales sur la descendance.

Dans ce contexte, un protocole expérimental *in vivo* d'expositions chroniques à faibles doses d'uranium a été mis au point chez le rat pour mettre en évidence expérimentalement un effet multigénérationnel d'origine épigénétique. Dans cette étude, le niveau de méthylation global de l'ADN a été mesuré dans les reins de trois générations de rats (mâles et femelles). La première génération de rat (F0)² était contaminée pendant 9 mois à partir de la naissance (période néonatale). La seconde (F1) était contaminée par l'uranium *in-utero* et indirectement *via* les cellules germinales paternelles (F0) jusqu'au sevrage et la dernière (F2), indirectement *via* les cellules germinales de la génération précédente exposée (F1) [52] (**Figure 3**).

Une légère augmentation de la masse corporelle des mâles de la première génération (F1) exposée à l'uranium a été observée (la masse corporelle des femelles ne variant pas). Pour la seconde génération (F2) une légère baisse de la masse corporelle accompagnée d'une diminution de la masse des reins, ont été observées exclusivement chez les animaux mâles (les femelles ne présentant toujours pas de différences significatives notables). De même, une hyperméthylation de l'ADN a aussi été observée au niveau des reins mâles de la première génération (F1) et de la seconde génération (F2) descendants de la génération F0 des parents contaminés à l'uranium [52].

CONCLUSIONS

Ces différentes études confirment la pertinence de la métabolomique en radiotoxicologie dans le cadre des études menées sur les effets des expositions chroniques à des faibles doses d'uranium. Elles ont démontré sa grande sensibilité et permis d'observer une relation dose-effet associée à des effets de seuils qui montrent que la réponse biologique aux faibles doses d'uranium n'est pas linéaire. Ces travaux ont aussi montré qu'il était possible de réaliser un modèle de test de diagnostic préclinique à partir des principaux marqueurs métabolomiques

² Le F vient du latin filialis ; Les parents sont notés F0 (**génération 0**). F1 pour les individus de la première génération et ainsi de suite.

352 urinaires identifiés chez les animaux contaminés. Ce test pourrait être utile au suivi sanitaire
353 et à l'expertise des risques liés aux expositions environnementales des populations à
354 l'uranium.

355 L'effet observé sur la voie du nicotinate-nicotinamide, elle-même identifiée dans différentes
356 études menées sur les effets rénaux de certains xénobiotiques dont l'uranium, pourrait être un
357 signe précoce des effets de l'uranium sur la fonction rénale.

358 L'analyse multiomique semble aussi très pertinente dans le domaine des faibles doses
359 d'expositions. Bien qu'elle se heurte à la fois à des effets de décalages temporels et aux effets
360 de seuils biologiques [27, 32], elle permet de réaliser une étude plus approfondie des
361 mécanismes et interactions moléculaires associés aux effets de l'uranium. Si ces études
362 apportent de nouvelles informations mécanistiques, il s'avère toutefois encore nécessaire de
363 les compléter par la mise en œuvre d'études *in vitro* pour rechercher plus spécifiquement
364 l'origine mécanistique des effets moléculaires observés *in vivo*. Cette approche expérimentale
365 a aussi le mérite de s'inscrire dans une démarche qui tend à minimiser et à remplacer dès que
366 cela s'avère possible, les expérimentations sur animaux vivants (principe de la règle des 3R
367 pour : Reduce, Refine, Replace).

368 Ces études ont aussi montré que l'exposition de certaines période critiques développementales
369 pouvait avoir des répercussions épigénétiques et biologiques sur plusieurs générations. Elles
370 révèlent aussi l'existence d'un dimorphisme sexuel des animaux observable à l'échelle du
371 phénotype (effet sur la masse corporelle et rénale), des métabolomes urinaires et rénaux mais
372 aussi au niveau épigénétique chez les descendants mâles d'animaux contaminés. Cette
373 dernière observation interroge sur l'existence d'une différence de sensibilité liée au sexe des
374 animaux.

375 En l'absence d'état physiopathologique observable sur une population de rats chroniquement
376 exposée par de faibles doses d'uranium, ces études expérimentales ont le mérite de fournir de
377 nouvelles connaissances scientifiques [34, 37, 44]. Cependant, les différences de masse
378 corporelle et rénale mesurées chez les descendants mâles d'animaux contaminés sont des
379 signes qui interrogent car éventuellement d'origine épigénétique ils pourraient être les signes
380 précoces d'effets physiopathologiques tardifs ou de prédisposition à certaines morbidités. Ces
381 résultats soulèvent la question du des risques engagés pour la descendance d'individus
382 exposés et méritent d'être approfondis.

383 Si ces données expérimentales contribuent à enrichir l'état actuel des connaissances
384 scientifiques, elles ne permettent pas de conclure en matière de risque car les effets
385 moléculaires identifiés dans ces études peuvent n'être que le reflet de mécanismes de
386 régulation homéostatiques liés au stress oxydant produit par l'uranium. Néanmoins, ces effets
387 pourraient aussi être les signes précoces d'une sensibilité fonctionnelle des reins, cause
388 d'effets indésirables tardifs pouvant apparaître en cas de multi-expositions ou de
389 comorbidités. Ces situations complexes d'exposition associées à l'hétérogénéité intrinsèque
390 de la population humaine méritent aussi d'être approfondies. Elles permettront d'estimer
391 l'influence que peuvent avoir certains paramètres endogènes comme l'âge, le sexe, l'origine
392 ethnique et l'état de santé mais aussi exogènes liés à différents stress environnementaux, sur
393 les seuils de sensibilité et de toxicité des individus contaminés à l'uranium [19, 38, 53].
394 Comme observé dans ces études, le sexe est un paramètre génétique majeur qu'il faut
395 impérativement considérer dans l'évaluation d'un risque sanitaire car il influe aussi bien sur la
396 sensibilité des individus exposés que sur l'impact que pourrait avoir une exposition à faible
397 dose sur la descendance [54-58]. L'épigénétique pouvant être à l'origine d'une réponse
398 cellulaire aux faibles doses, l'exposition précoce des individus pourrait aussi avoir une
399 influence considérable sur leur état de santé à l'âge adulte (concept de Dohad) [49].

Finalement, l'étude de modèles pathologiques, présentant une sensibilité voire une morbidité rénale (cas des populations diabétiques) pourrait aussi être pertinente pour identifier les populations les plus sensibles à de tels risques d'exposition.

En matière d'évaluation des risques, l'identification des mécanismes susceptibles d'engendrer une nocivité voire une toxicité à moyen ou long terme, nécessite de pouvoir aborder la complexité du vivant dans sa globalité mais aussi de maîtriser l'ensemble des paramètres physico-chimiques qui influent sur un organisme tout au long de sa vie [59]. Dans le domaine des expositions environnementales, ces approches méthodologiques à large spectre d'analyse sont à présent devenues incontournables et nécessaires en toxicologie prédictive [60]. Cependant, ce travail considérable ne pourra se faire que par un investissement scientifique fort et multidisciplinaire.

REMERCIEMENTS

Ces travaux ont en partie été soutenus par la société Orano. Les auteurs remercient aussi le Dr Philippe Lestaevel pour l'ensemble de ses conseils et la relecture de cet article.

LIENS D'INTERETS :

Les auteurs déclarent ne pas avoir de conflit d'intérêt avec la société Orano.

EXPERIMENTATION ANIMALES

Les procédures expérimentales ont été approuvées par le Comité d'éthique de l'Institut de Radioprotection et de Sécurité Nucléaire (IRSN) et sont conformes à la réglementation française en matière d'expérimentation animale (loi n° 87-848 du 19 octobre 1987 du ministère de l'agriculture, modifiée le 20 mai 2001). Le numéro d'Autorisation de Projet utilisant des Animaux à des Fins Scientifiques est APAFIS#6228-20 16072716072076 v3 et le numéro d'agrément de l'Etablissement Utilisateur est D9203201.

REFERENCES

- 425 1. IRSN. *Origines de la radioactivité*
- 426 *La radioactivité naturelle et artificielle en France*. Base de connaissance 2014; Available from:
- 427 [https://www.irsn.fr/FR/connaissances/Environnement/radioactivite-](https://www.irsn.fr/FR/connaissances/Environnement/radioactivite-environnement/sources-radioactivite/Pages/sommaire.aspx#.XcUqnmNCe70)
- 428 [environnement/sources-radioactivite/Pages/sommaire.aspx#.XcUqnmNCe70](https://www.irsn.fr/FR/connaissances/Environnement/radioactivite-environnement/sources-radioactivite/Pages/sommaire.aspx#.XcUqnmNCe70).
- 429 2. IRSN. *Uranium naturel et environnement*. Fiche radionucléide 2012; Available from:
- 430 [https://www.irsn.fr/fr/larecherche/publications-documentation/fiches-](https://www.irsn.fr/fr/larecherche/publications-documentation/fiches-radionucleides/environnement/pages/uranium-naturel-environnement.aspx#.XcUzBmNCe70)
- 431 [radionucleides/environnement/pages/uranium-naturel-](https://www.irsn.fr/fr/larecherche/publications-documentation/fiches-radionucleides/environnement/pages/uranium-naturel-environnement.aspx#.XcUzBmNCe70)
- 432 [environnement.aspx#.XcUzBmNCe70](https://www.irsn.fr/fr/larecherche/publications-documentation/fiches-radionucleides/environnement/pages/uranium-naturel-environnement.aspx#.XcUzBmNCe70).
- 433 3. Souidi, M., et al., *[Uranium: properties and biological effects after internal contamination]*.
- 434 *Ann Biol Clin (Paris)*, 2009. **67**(1): p. 23-38.
- 435 4. Paquet, F., *Toxicologie nucléaire environnementale et humaine*, ed. Tec&Doc2009, 09-
- 436 2009.
- 437 5. Priest, N.D., *Toxicity of depleted uranium*. *Lancet*, 2001. **357**(9252): p. 244-6.
- 438 6. Craft, E., et al., *Depleted and natural uranium: chemistry and toxicological effects*. *J Toxicol*
- 439 *Environ Health B Crit Rev*, 2004. **7**(4): p. 297-317.
- 440 7. CEA. *L'essentiel sur... L'uranium*. Fiche radionucléide 2017; Available from:
- 441 <http://www.cea.fr/comprendre/Pages/radioactivite/essentiel-sur-uranium.aspx>.
- 442 8. Organization, W.H., *Depleted uranium*
- 443 *Sources, Exposure and Health Effects*, in *World Health Organization*, D. techniques, Editor 2001.
- 444 9. IRSN. *Le parc des réacteurs nucléaires français en exploitation*. Base de connaissances
- 445 2017; Available from:
- 446 [https://www.irsn.fr/FR/connaissances/Installations_nucleaires/Les-centrales-](https://www.irsn.fr/FR/connaissances/Installations_nucleaires/Les-centrales-nucleaires/reacteurs-nucleaires-France/Pages/0-sommaire-parc-reacteurs-nucleaires-France.aspx#.XcU4AmNCfRY)
- 447 [nucleaires/reacteurs-nucleaires-France/Pages/0-sommaire-parc-reacteurs-nucleaires-](https://www.irsn.fr/FR/connaissances/Installations_nucleaires/Les-centrales-nucleaires/reacteurs-nucleaires-France/Pages/0-sommaire-parc-reacteurs-nucleaires-France.aspx#.XcU4AmNCfRY)
- 448 [France.aspx#.XcU4AmNCfRY](https://www.irsn.fr/FR/connaissances/Installations_nucleaires/Les-centrales-nucleaires/reacteurs-nucleaires-France/Pages/0-sommaire-parc-reacteurs-nucleaires-France.aspx#.XcU4AmNCfRY).
- 449 10. Arogunjo, A.M., et al., *Uranium and thorium in soils, mineral sands, water and food samples*
- 450 *in a tin mining area in Nigeria with elevated activity*. *J Environ Radioact*, 2009. **100**(3): p.
- 451 232-40.
- 452 11. Bleise, A., P.R. Danesi, and W. Burkart, *Properties, use and health effects of depleted*
- 453 *uranium (DU): a general overview*. *J Environ Radioact*, 2003. **64**(2-3): p. 93-112.
- 454 12. Zhu, G., et al., *Accumulation and distribution of uranium in rats after implantation with*
- 455 *depleted uranium fragments*. *J Radiat Res*, 2009. **50**(3): p. 183-92.
- 456 13. Pellmar, T.C., et al., *Distribution of uranium in rats implanted with depleted uranium*
- 457 *pellets*. *Toxicol Sci*, 1999. **49**(1): p. 29-39.
- 458 14. Zhu, G., et al., *Renal dysfunction induced by long-term exposure to depleted uranium in*
- 459 *rats*. *Arch Toxicol*, 2009. **83**(1): p. 37-46.
- 460 15. Miller, A.C., et al., *Observation of radiation-specific damage in human cells exposed to*
- 461 *depleted uranium: dicentric frequency and neoplastic transformation as endpoints*. *Radiat*
- 462 *Prot Dosimetry*, 2002. **99**(1-4): p. 275-8.
- 463 16. Miller, A.C., et al., *Depleted uranium-catalyzed oxidative DNA damage: absence of*
- 464 *significant alpha particle decay*. *J Inorg Biochem*, 2002. **91**(1): p. 246-52.
- 465 17. Konietzka, R., *Gastrointestinal absorption of uranium compounds - A review*. *Regul Toxicol*
- 466 *Pharmacol*, 2014.
- 467 18. Solhaug, M.J., P.M. Bolger, and P.A. Jose, *The developing kidney and environmental toxins*.
- 468 *Pediatrics*, 2004. **113**(4 Suppl): p. 1084-91.
- 469 19. Gilman, A.P., et al., *Uranyl nitrate: 28-day and 91-day toxicity studies in the Sprague-*
- 470 *Dawley rat*. *Toxicol Sci*, 1998. **41**(1): p. 117-28.
- 471 20. Leggett, R.W. and J.D. Harrison, *Fractional absorption of ingested uranium in humans*.
- 472 *Health Phys*, 1995. **68**(4): p. 484-98.
- 473 21. Zheng, L.Y., et al., *Environmental exposures and pediatric kidney function and disease: A*
- 474 *systematic review*. *Environ Res*, 2017. **158**: p. 625-648.
- 475 22. Stammeler, L., et al., *Renal Effects and Carcinogenicity of Occupational Exposure to*
- 476 *Uranium: A Meta-Analysis*. *Nephron Extra*, 2016. **6**(1): p. 1-11.

- 477 23. Faa, A., et al., *Depleted Uranium and Human Health*. Curr Med Chem, 2018. **25**(1): p. 49-
478 64.
- 479 24. Strand, L.A., J.I. Martinsen, and E.K. Borud, *A 5-Year Continued Follow-up of Cancer Risk
480 and All-Cause Mortality Among Norwegian Military Peacekeepers Deployed to Kosovo
481 During 1999-2016*. Mil Med, 2019.
- 482 25. Goodson, J.M., et al., *Salivary N1-Methyl-2-Pyridone-5-Carboxamide, a Biomarker for
483 Uranium Uptake, in Kuwaiti Children Exhibiting Exceptional Weight Gain*. Front
484 Endocrinol (Lausanne), 2019. **10**: p. 382.
- 485 26. Auvinen, A., et al., *Uranium and other natural radionuclides in drinking water and risk of
486 leukemia: a case-cohort study in Finland*. Cancer Causes Control, 2002. **13**(9): p. 825-9.
- 487 27. Mothersill, C. and C. Seymour, *Implications for environmental health of multiple stressors*. J
488 Radiol Prot, 2009. **29**(2A): p. A21-8.
- 489 28. Mothersill, C. and C. Seymour, *Implications for human and environmental health of low
490 doses of ionising radiation*. J Environ Radioact, 2014. **133**: p. 5-9.
- 491 29. Holland, N., *Future of environmental research in the age of epigenomics and exposomics*.
492 Rev Environ Health, 2017. **32**(1-2): p. 45-54.
- 493 30. Pernot, E., et al., *Ionizing radiation biomarkers for potential use in epidemiological studies*.
494 Mutat Res, 2012. **751**(2): p. 258-86.
- 495 31. Philippe, H., *Effet des faibles doses : preuves et inférences*. Environnement, Risques &
496 Santé, 2010. **9**(4): p. 295-302.
- 497 32. Oltvai, Z.N. and A.L. Barabasi, *Systems biology. Life's complexity pyramid*. Science, 2002.
498 **298**(5594): p. 763-4.
- 499 33. Souidi, M., I. Dublineau, and P. Lestaevel, *Depleted uranium: Metabolic disruptor?*
500 Environnement, Risques et Sante, 2011. **10**(6): p. 469-476.
- 501 34. Grison, S., et al., *Metabolomics identifies a biological response to chronic low-dose natural
502 uranium contamination in urine samples*. Metabolomics, 2013. **9**: p. 1168-1180.
- 503 35. Marano, F., *DOSES-RÉPONSES NON MONOTONES : UN ENJEU POUR L'ÉVALUATION DES
504 RISQUES*, in *YearBook Santé et environnement 2017*. p. 229-34.
- 505 36. Liu, S.Z., *Nonlinear dose-response relationship in the immune system following exposure to
506 ionizing radiation: mechanisms and implications*. Nonlinearity Biol Toxicol Med, 2003.
507 **1**(1): p. 71-92.
- 508 37. Grison, S., et al., *Metabolomics reveals dose effects of low-dose chronic exposure to uranium
509 in rats: identification of candidate biomarkers in urine samples*. Metabolomics, 2016.
510 **12**(10): p. 154.
- 511 38. Preston, R.J., *Children as a sensitive subpopulation for the risk assessment process*. Toxicol
512 Appl Pharmacol, 2004. **199**(2): p. 132-41.
- 513 39. Frisbie, S.H., E.J. Mitchell, and B. Sarkar, *World Health Organization increases its drinking-
514 water guideline for uranium*. Environ Sci Process Impacts, 2013. **15**(10): p. 1817-23.
- 515 40. Hirsch, G.H., *Stimulation of renal organic base transport by uranyl nitrate*. Can J Physiol
516 Pharmacol, 1972. **50**(6): p. 533-8.
- 517 41. Shim, C.K., et al., *Estimation of renal secretory function for organic cations by endogenous
518 N1-methylnicotinamide in rats with experimental renal failure*. J Pharmacokinet
519 Biopharm, 1984. **12**(1): p. 23-42.
- 520 42. Park, S.H., J.M. Goo, and C.H. Jo, *Receiver operating characteristic (ROC) curve: practical
521 review for radiologists*. Korean J Radiol, 2004. **5**(1): p. 11-8.
- 522 43. Haiech, J., *[Evolution of biology seen by a biologist: from description to prediction]*. Med Sci,
523 2013(2): p. 43-6.
- 524 44. Grison, S., et al., *Applying a multiscale systems biology approach to study the effect of
525 chronic low-dose exposure to uranium in rat kidneys*. Int J Radiat Biol, 2019: p. 1-38.
- 526 45. Felsenfeld, G., *A Brief History of Epigenetics*. Cold Spring Harbor Perspectives in Biology,
527 2014. **6**(1): p. a018200.
- 528 46. Hamilton, J.P., *Epigenetics: principles and practice*. Dig Dis, 2011. **29**(2): p. 130-5.
- 529 47. Ho, S.M., et al., *Environmental epigenetics and its implication on disease risk and health
530 outcomes*. ILARJ, 2012. **53**(3-4): p. 289-305.

48. Jones, P.A., *Functions of DNA methylation: islands, start sites, gene bodies and beyond*. Nat Rev Genet, 2012. **13**(7): p. 484-92.
49. Hoffman, D.J., R.M. Reynolds, and D.B. Hardy, *Developmental origins of health and disease: current knowledge and potential mechanisms*. Nutr Rev, 2017. **75**(12): p. 951-970.
50. Lodge, C.J., et al., *Grandmaternal smoking increases asthma risk in grandchildren: A nationwide Swedish cohort*. Clin Exp Allergy, 2017.
51. Sen, A., et al., *Multigenerational epigenetic inheritance in humans: DNA methylation changes associated with maternal exposure to lead can be transmitted to the grandchildren*. Sci Rep, 2015. **5**: p. 14466.
52. Grison, S., et al., *Low dose of uranium induces multigenerational epigenetic effects in rat kidney*. Int J Radiat Biol, 2018. **15**: p. 1-10.
53. Liu, J., et al., *A study of the influence of sex on genome wide methylation*. PLoS One, 2010. **5**(4): p. e10028.
54. Pogribny, I., et al., *Dose-dependence, sex- and tissue-specificity, and persistence of radiation-induced genomic DNA methylation changes*. Biochem Biophys Res Commun, 2004. **320**(4): p. 1253-61.
55. Junien, C., A. Gabory, and L. Attig, *[Sexual dimorphism in the XXI(st) century]*. Med Sci (Paris), 2012. **28**(2): p. 185-92.
56. Gochfeld, M., *Sex Differences in Human and Animal Toxicology*. Toxicol Pathol, 2017. **45**(1): p. 172-189.
57. Perez-Cerezales, S., et al., *Early sex-dependent differences in response to environmental stress*. Reproduction, 2017.
58. Bourc'his, D. and C. Proudhon, *Sexual dimorphism in parental imprint ontogeny and contribution to embryonic development*. Mol Cell Endocrinol, 2008. **282**(1-2): p. 87-94.
59. Wild, C.P., *The exposome: from concept to utility*. Int J Epidemiol, 2012. **41**(1): p. 24-32.
60. Marano, F. and R. Barouki, *La toxicologie prédictive : quel apport pour l'évaluation des risques en santé environnementale ?* Environ Risque Santé, 2011. **10**: p. 404-11.

Légendes des figures

Figure 1 : A) analyse PLS des spectres métabolomiques urinaires de l'ensemble des animaux contaminés aux différentes doses d'uranium. Cette représentation montre l'existence d'une relation dose-effet pour laquelle les animaux contaminés par la solution la plus concentrée en uranium se distinguent nettement des autres qui sont eux-mêmes séparés du groupe témoin non contaminé. **B)** répartition des métabolites les plus discriminants retrouvés dans l'urine des animaux contaminés. Les 11 métabolites discriminants sont communs à toutes les doses. Validé par courbe de ROC, ils permettent de réaliser un test de diagnostic utile au suivi sanitaire d'individus exposés à l'uranium.

³ Adverse Outcome Pathway : terme anglo-saxon se rapportant à la recherche d'une représentation structurée d'événements biologiques qui conduisent à des effets indésirables. Cette approche semble pertinente pour l'évaluation des risques

580

581 **Figure 3** : effet multigénérationnel d'une exposition environnementale : l'exposition d'une
 582 femelle gestante (F0) peut affecter simultanément ses enfants (F1) durant les stades
 583 développementaux embryonnaires et/ou fœtaux et ses petits-enfants (F2) par exposition
 584 indirecte des futures cellules sexuelles des enfants exposés *in utero* (F1). Ces périodes
 585 développementales sont des périodes critiques durant lesquelles ont lieu les principales phases
 586 de programmation épigénétique de l'ADN. Un défaut de programmation épigénétique
 587 survenant aux premiers stades de la vie peut avoir des conséquences tardives sur la santé des
 588 individus adultes (concept de Dohad⁴).

589

⁴ Developmental Origins of Health and Disease : terme anglo-saxon désignant les origines développementales de la santé et des maladies