UNIVERSITÉ DE LA RÉUNION

Unité de Formation et de Recherche Santé

FONDATION PÈRE FAVRON

CENTRE HOSPITALIER UNIVERSITAIRE LA RÉUNION

EPIGENETIQUE ET TCAF

Troubles Causés par l'Alcoolisation Foetale

VIVRE AVEC LE SAF

Centre Ressources ETCAF

AG VALSAF 11 mai 2019

Pr Bérénice DORAY

EPA et TCAF

Spectre d'anomalies développementales

Dose

Durée

Mode

Stade d'exposition

Pas de dose minimale sans risque

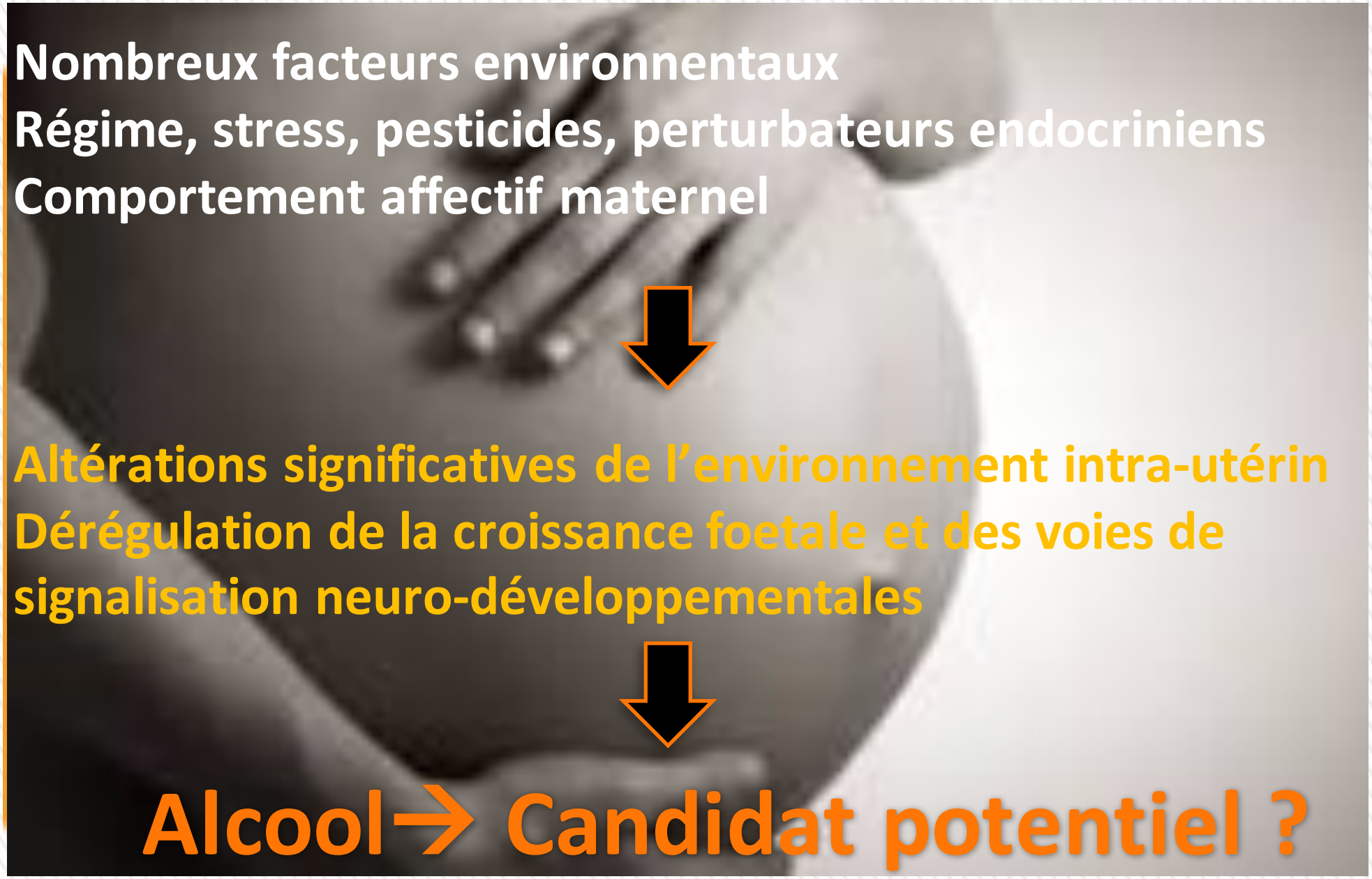
Binge drinking : Risque plus élevé

Santé maternelle et Nutrition

Patrimoine génétique maternel et fœtal Epigénétique

Warren et Li 2005
Green et al. 2007

Epigénétique et EPA



Nombreux facteurs environnentaux
Régime, stress, pesticides, perturbateurs endocriniens
Comportement affectif maternel

↓

Altérations significatives de l'environnement intra-utérin
Dérégulation de la croissance foetale et des voies de signalisation neuro-développementales

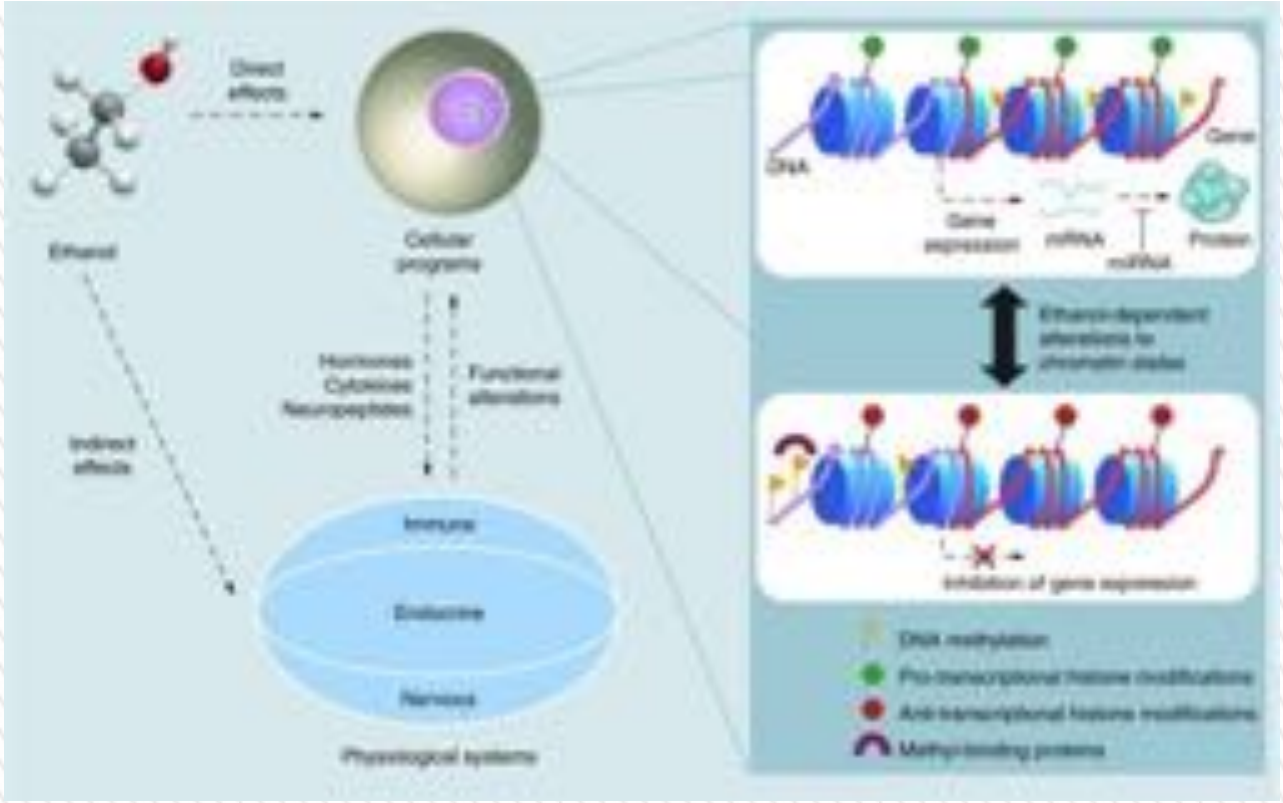
↓

Alcool→ Candidat potentiel ?

Epigénétique

Toute modification biochimique sur le génome ou autour du génome ne modifiant pas la séquence nucléotidique mais la transcription génique

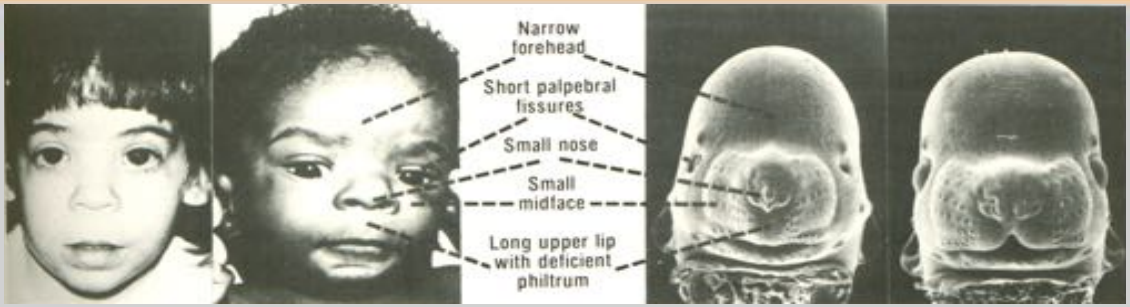
(1) Méthylation de l'ADN influençant la transcription des gènes (2) modification post-traductionnelles des histones permettant la compaction ou la relaxation de l'ADN et (3) microARNs perturbant la traduction des ARNm



Lussier et al. 2017

Epigénétique et EPA

Modèles animaux



Exposition à différents stades du développement embryo-foetal

Exposition à différentes doses d'alcool

Modes d'exposition (aigu, chronique)

Analyses de différents métabolites et de neurotransmetteurs intra-cérébraux

Analyse de l'expression de cascades de gènes

Mécanismes épigénétiques

Modèles cellulaires

Analyses de différents métabolites et de neurotransmetteurs intracérébraux

Analyse de l'expression de cascades de gènes

Dissection des voies de signalisation moléculaires

Mécanismes épigénétiques

Etat des connaissances en 2019 ????

Méthylation

Méthylation et EPA

Preuve du concept

Wolff et al. 1998

Souris mutante Agouti "Agouti viable yellow" (Avy)

Couleur du pelage (jaune, tachetée, marron) sous contrôle du gène *Avy*

Gène *Avy* influencé par un élément sensible à la méthylation

Jaune ➡ non méthylé

Pseudo Agouti ➡ hyperméthylé

EPA ➡ Augmente l'incidence d'animaux pseudo-agouti
Hyperméthylation responsable de la répression du gène *Avy*

Epigénétique et EPA

3 périodes clés de la reprogrammation épigénétique

1. **Préconception**
2. **Préimplantation**
3. **Gastrulation**

Pas de contact direct

Exposition avant la conception

Consommation maternelle

Cas cliniques : RCIU

Livy et al. 2004

Etude de l'expression du gène *Avy*

Exposition pendant 10 semaines avant la conception
Augmentation de plus de 50% de la fréquence des pseudo-agouti

Kaminen-Ahola et al. 2010

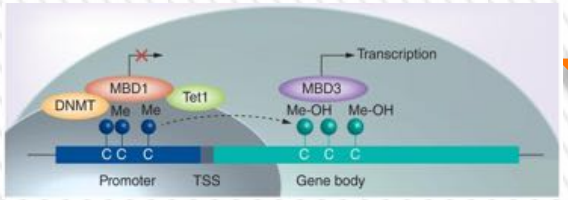
Exposition avant la conception

Consommation paternelle

Cas cliniques : 75% des enfants TCAF → Consommation paternelle

Phénotype TCAF associé avec la consommation paternelle

Abel et al. 2004



Rat : Expression spermatique diminuée de *DNMT1* (DNA *Méthyltransférase1)* après 9 semaines d'exposition

Bielawski et al. 2002

Homme : Déméthylation de certaines regions ADN après exposition

Ouko et al. 2009

Anomalies expression génique chez le foetus humain

Haycock et Ramsay 2009
Chang et al. 2017

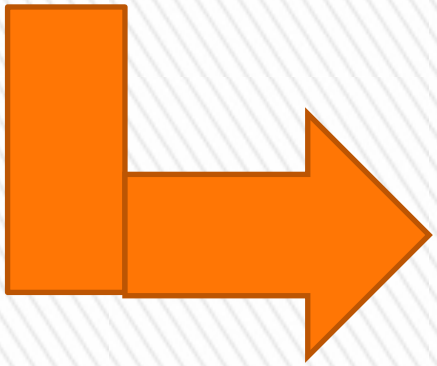
Conséquences : réduction significative du volume cérébral, en particulier cervelet, noyaux de la base et corps calleux

Exposition préimplantatoire

Hypotrophie placenta /embryon

Haycock et Ramsay 2009

Marjonen et al. 2018



Diminution de la méthylation des allèles paternels dans le placenta
Sites soumis à empreinte parentale locus H19/IGF2

Exposition embryonnaire

Souris : Exposition aiguë lors de la gastrulation

Période la plus sensible aux effets tératogènes

Garro et al. 1991

Liu et al. 2009

Déméthylation globale de l'ADN

Hyperméthylation significative du promoteur de nombreux gènes : cycle cellulaire, croissance cellulaire, apoptose, spécificité neuronale

RCIU

Malformations, Anomalies de Fermeture du Tube neural

Exposition pendant la grossesse
Augmentation des niveaux de méthylation

Chez la souris : hippocampe (apprentissage, mémoire)

Chen et al. 2013

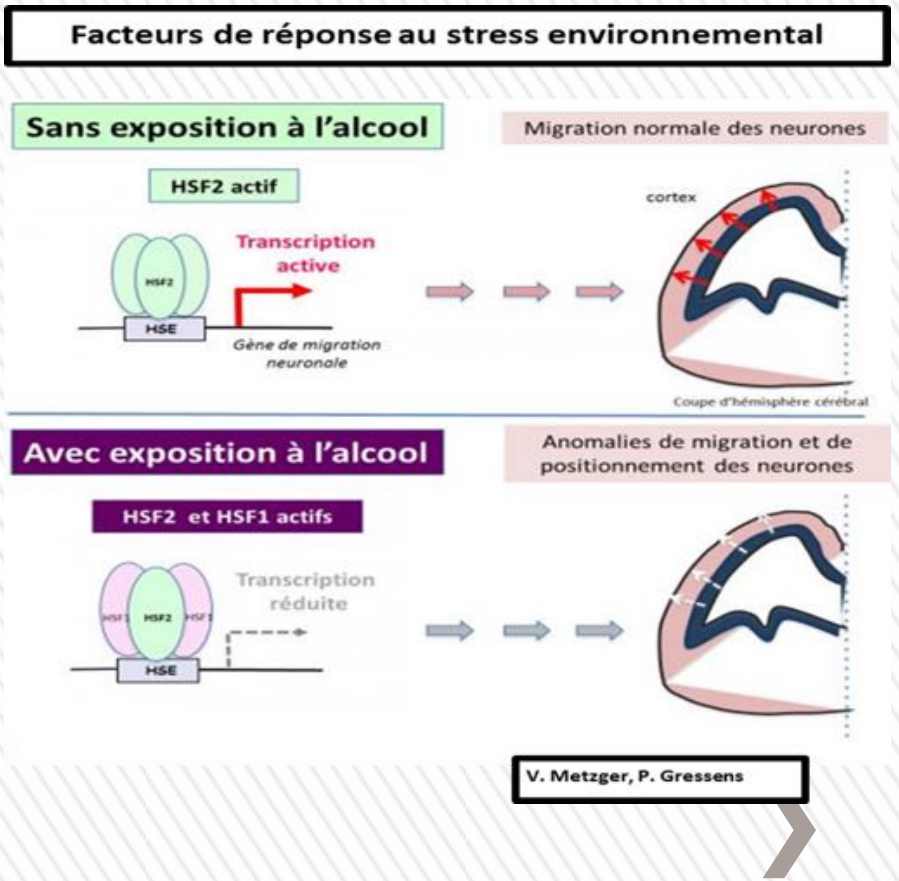
Diminution de la proopiomélanocortine exprimée dans l'hypothalamus, régulateur clé de la réponse au stress

Bekdash et al. 2013

Méthylation anormale et gènes

Exposition de la souris gestante à une alcoolisation chronique
Persistance de l'activité de HSF2 qui réactive HSF1 normalement réprimé dans le cerveau non stressé

Disruption de l'expression génique contrôlant la migration neuronale : Migration anormale au niveau cortical



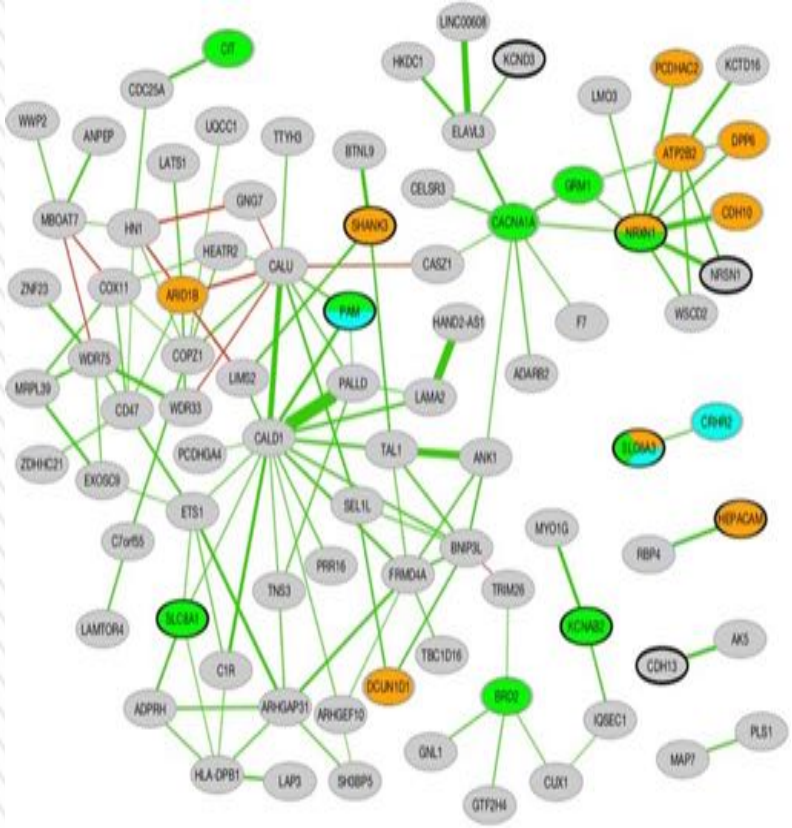
Méthylation anormale et gènes

Portales-Casamar et al. 2016

110 enfants âgés de 5 à 18 ans avec TCAF versus 96 contrôles

Analyse la méthylation de l'ADN → profils de méthylation (1661 sites CpG différentiellement méthylés)

Gènes hyperméthylés impliqués dans le développement embryonnaire, la régulation cellulaire, la différenciation cellulaire…



Epigenetic regulation: Mbd3, Dnmtl, Dnmt3b et Smarca2

Transcription regulation:: SIN3A, ZNF562, Cutl2 (Cux2), Pou4f3 and Sox7

Metabolic regulation: Pcft, Rfc, Fpgs, Adh, Cytp4502c11, Lasdh and Hal

Cell cycle regulation: Bub1, E2f7, Ccnbl, Plk1, CDC23 etLIN37

Cell differenciation: Pard6a, Dgcr2, ERMAP, ACTR3C, Neurod6, Snail1 et Srf

Cell survival: Gst-yc2, Crh and Tnf

Neuronal communication: MAOA, GABRB3, HTR3A, HTR2B, DRD4, GRIN1, Nr2b, OPRM1, POMC, PDYN and Pnoc

Synaptic plasticity: NCAM1

Embryonic development: Jag1, Elavl2, Igf1, Igf2, ABR, Aldh1a1, Enah, Ets2, Vax1, Lim2, Kif1a, Ncstn, Smyd1 and Efemp2

Imprinted genes: H19/IGF2 locus, DLK1/GLK2 locus, H19, Cdkn1c,Ube3a, Grb10,Igf2r, Slc22a18, Gatm, PEG10 and Nnat

Genes responsible of developmental defects: Wbscr22, Nipbl, Bsnd, Ptpn11, Pthlh, Pafah1b1, Vsx1, Vax2, Pdgfra, Ube3a, Dmpk, Idua, Kif21a and Foxl2

Late-onset diseases: SNCA, App, Hmox and Trpm7

Cancer : BLCAP and ACTR3C

Identifier des profils de méthylation de l'ADN chez les sujets porteurs de TCAF par rapport à une population non exposée à l'alcool afin d'établir une signature épigénétique de l'ETCAF.

Demande PHRC-I 2019
METHY-SAF
Dr Paul Gueguen
Marqueurs épigénétiques
Bordeaux

1

Population Réunion
Comparaison patients / contrôles

2

Population Réunion
Comparaison cellules buccales / sanguines
Tissu le plus approprié

3

Signature pronostique ?
Comparaison SAF complet/SAF partiel/TNDLA

4

Signature universelle ?
Comparaison Réunion vs Métropole
vs autres
publications

Outil précoce de dépistage des TCAF

Héritabilité des anomalies épigénétiques

EPA → Effets transgénérationnels

Administration d'un verre de vin à une rate gestante pendant 4 jours (Equivalent au 2ème trimestre)

Croisement de la descendance, sans EPA

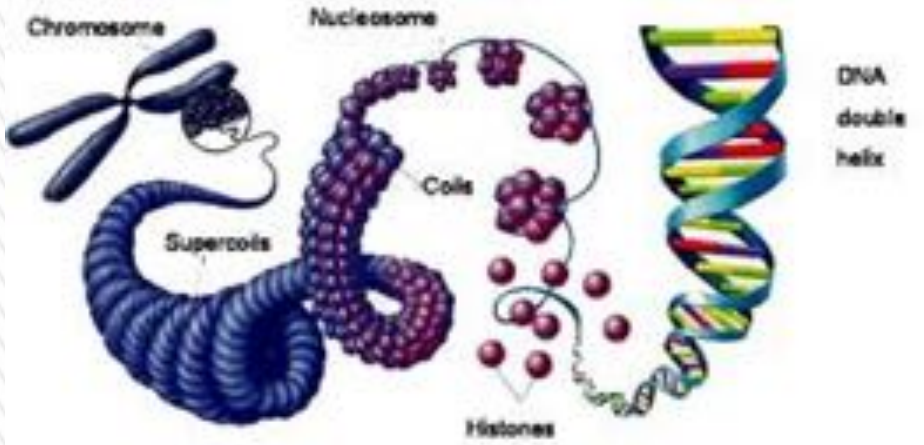
Descendance plus tolérante à l'alcool

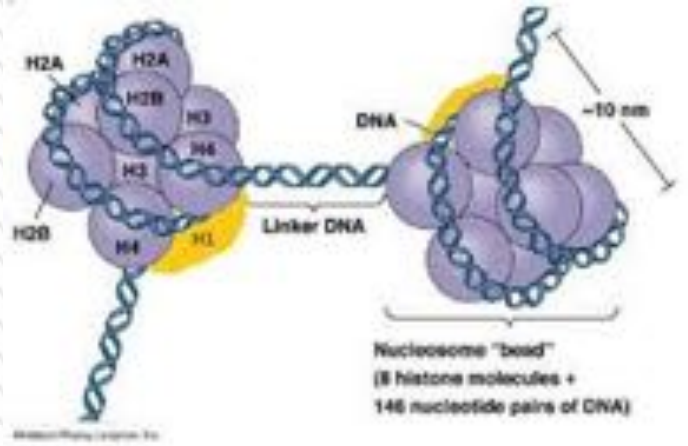
Diminution de la méthylation du gène du récepteur au glutamate *Nr2b* (glutamate receptor gene) impliqué dans les fonctions neurodéveloppementales

Etat des connaissances en 2019 ????

Anomalies des Histones

DNA compaction





ADN enroulé en nucléosomes, protéines octamériques H2A, H2B, H3 and H4

Modifications des histones → acétylation, méthylation, phosphorylation, ubiquitination

↓

compaction / relaxation de la chromatine

↓

modulation de la transcription

Acétylation et méthylation de H3K4: Augmentation de la transcription

Méthylation de H3K9 et H3K27 : Répression de la transcription

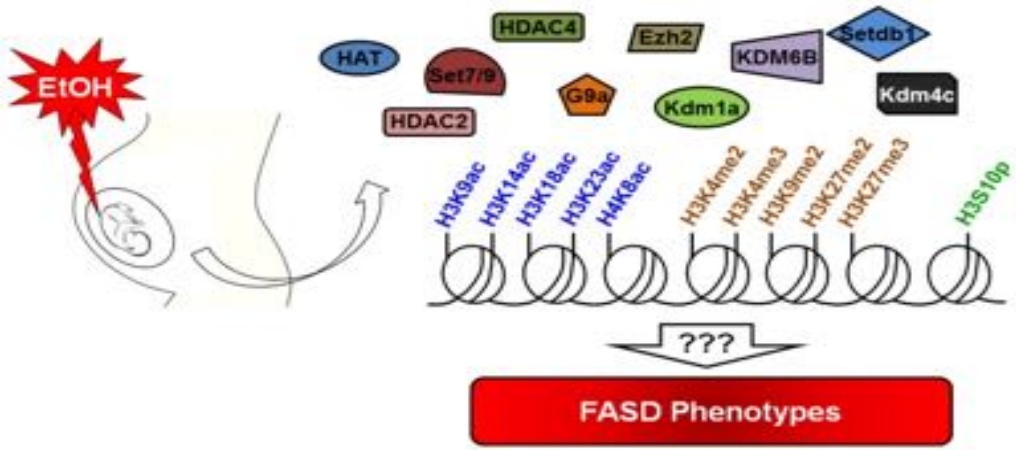
EPA et compaction de l'ADN

Culture de neurones exposés à des hauts niveaux d'éthanol

Anomalies de la chromatine conduisant à des anomalies de triméthylation H3K4 et H3K27, acétylation et méthylation de H3K9 dose-dépendantes

Veazay et al. 2013

EPA et Compaction de l'ADN



Mandal et al. 2017

EPA

Acétylation/déacétylation, méthylation/déméthylation et phosphorylation des histones

Corrélations des modifications avec les TCAF encore inconnues

Ethanol impliqué dans l'hyperacétylation de gènes exprimés dans différentes régions du cerveau en développement et au niveau du coeur (*NKX2.5*, *β-MHC* et *Cx43* dans le coeur foetal)

Peng et al. 2017

Diminution des niveaux d'acétylation H3 et H4 dans le cervelet du rat (répression de l'histone-acetyl-transferase et de la CREB binding protein (CBP).

Guo el al. 2011

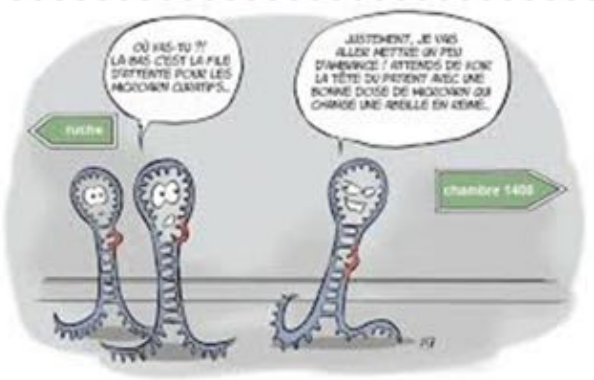
L'EPA influence les niveaux de méthylation des histones au niveau de MeCP2

Kim el al. 2013

Etat des connaissances en 2019 ????

Micro-ARNs

Alcool et miARNs



Micro-ARNs (miRNAs)

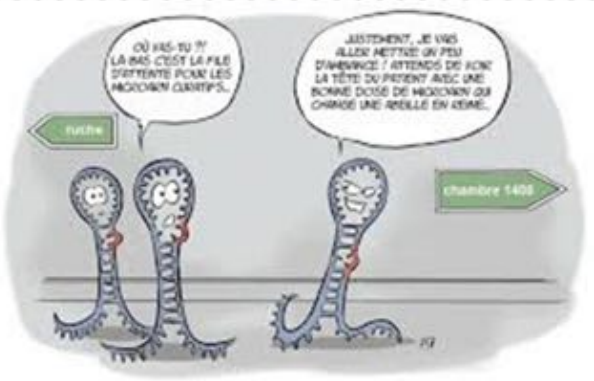
- **ARN simple brin (21-24 nucleotides)**
- **Répresseurs de la traduction en s'hybridant à l'ARNm**

Alcool in vitro ⇨ altération de l'expression de certains ARNm exprimés dans les cultures de précurseurs de neurones et dans les neurones granuleux cérébelleux

›

EPA et mi-ARN

Modèle murin *in vivo*



EPA entre le 2ème et 3ème trimestre → Augmentation de l'expression des miARN-10a et -10b, qui régulent l'expression de *Hoxa1*, gène majeur du développement embryonnaire

Wang et al. 2009

Alcool en postnatal et ARNmi

EPA chronique

Influence l'expression des ARNmi

35 ARNmi dans le cortex préfrontal post-mortem des sujets alcooliques

Lewohl et al. 2011

Chez la souris, ARNmi -30a-5p impliqué dans la transition consommation modérée → consommation excessive en modulant négativement le facteur neurotrophique BDNF, important pour la neuroplasticité dans le cortex préfrontal

Darcq et al. 2014

Conclusion
-
Perspectives

En conclusion

EPA

Reprogrammation des systèmes neurobiologiques

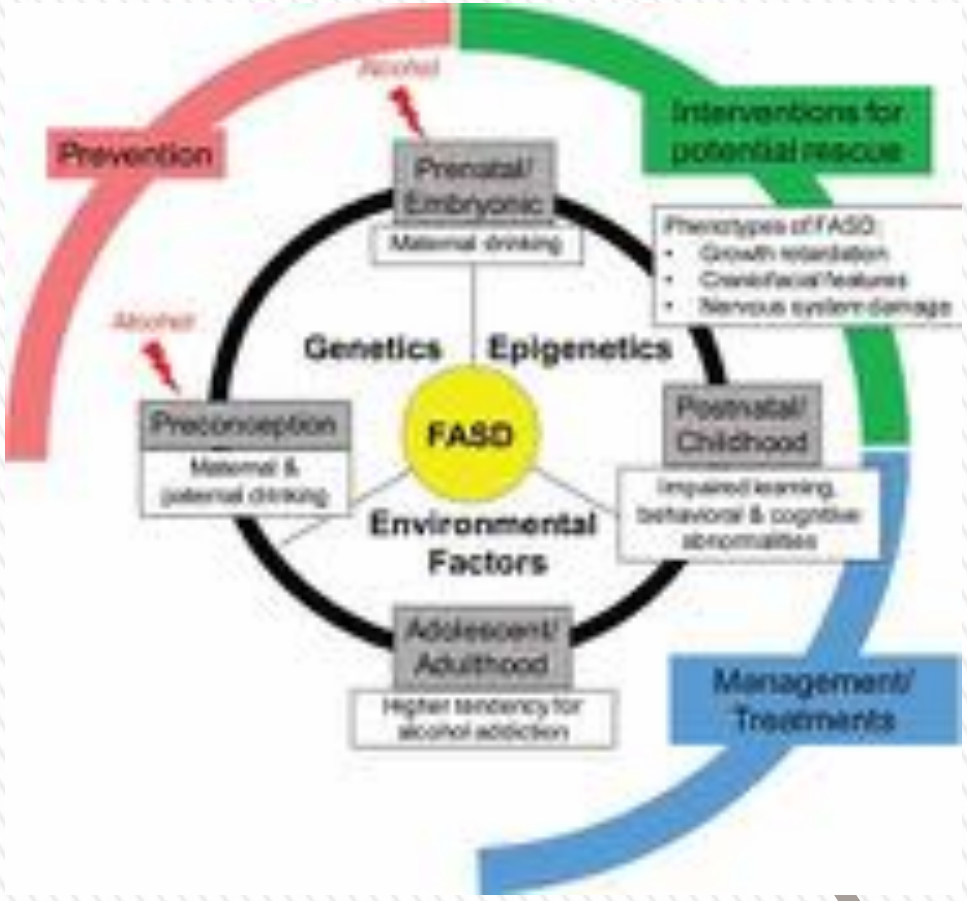
Perturbant les circuits développementaux *via* des altérations épigénétiques

Résultant en une vulnérabilité majorée neurobiologique, comportementale

En conclusion

DIAGNOSTIC EPIGENETIQUE

Traitement PHARMACOLOGIQUE
Choline? Acide folique?



ZERO ALCOOL
Pendant la grossesse

ZERO ALCOOL
Dès le projet de grossesse…
Pour la future mère et le futur père