

Les effets de la chimiothérapie sur l'épigénome des spermatozoïdes

Frédéric Chalmel (DR2 Inserm)

co-responsable de l'équipe UrGenT

Physiology & Physiopathology of the UroGenital Tract

Institut de recherche en santé, environnement et travail (IRSET), Rennes

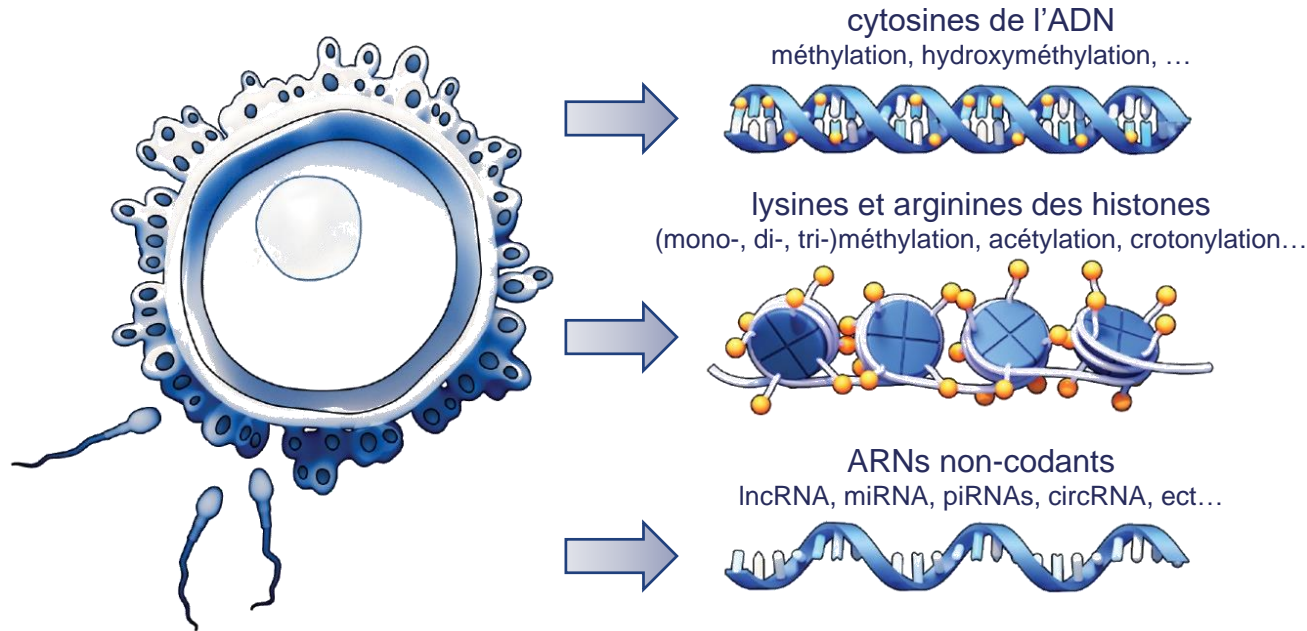
L'épigénétique - définition



L'ensemble des **modifications chimiques et structurales** qui affectent **l'expression des gènes** sans altérer la séquence d'ADN elle-même.

Héritabilité: transmission d'une cellule à une autre (division cellulaire)

Héritage: transmission d'un individu à ses descendants



	« Silenciation » et activation génique	Expression «tissue-specific»	Organisation de la chromatine	Impression parentale	Inactivation du chromosome X
cytosines de l'ADN méthylation, hydroxyméthylation, ...	✓	✓	✓	✓	✓
lysines et arginines des histones (mono-, di-, tri-)méthylation, acétylation, crotonylation...	✓	✓	✓		
ARNs non-codants lncRNA, miRNA, piRNAs, circRNA, ect...	✓	✓	✓		✓

L'« environnement » influence l'épigénome des gamètes!

Altération de l'épigénome cellulaire

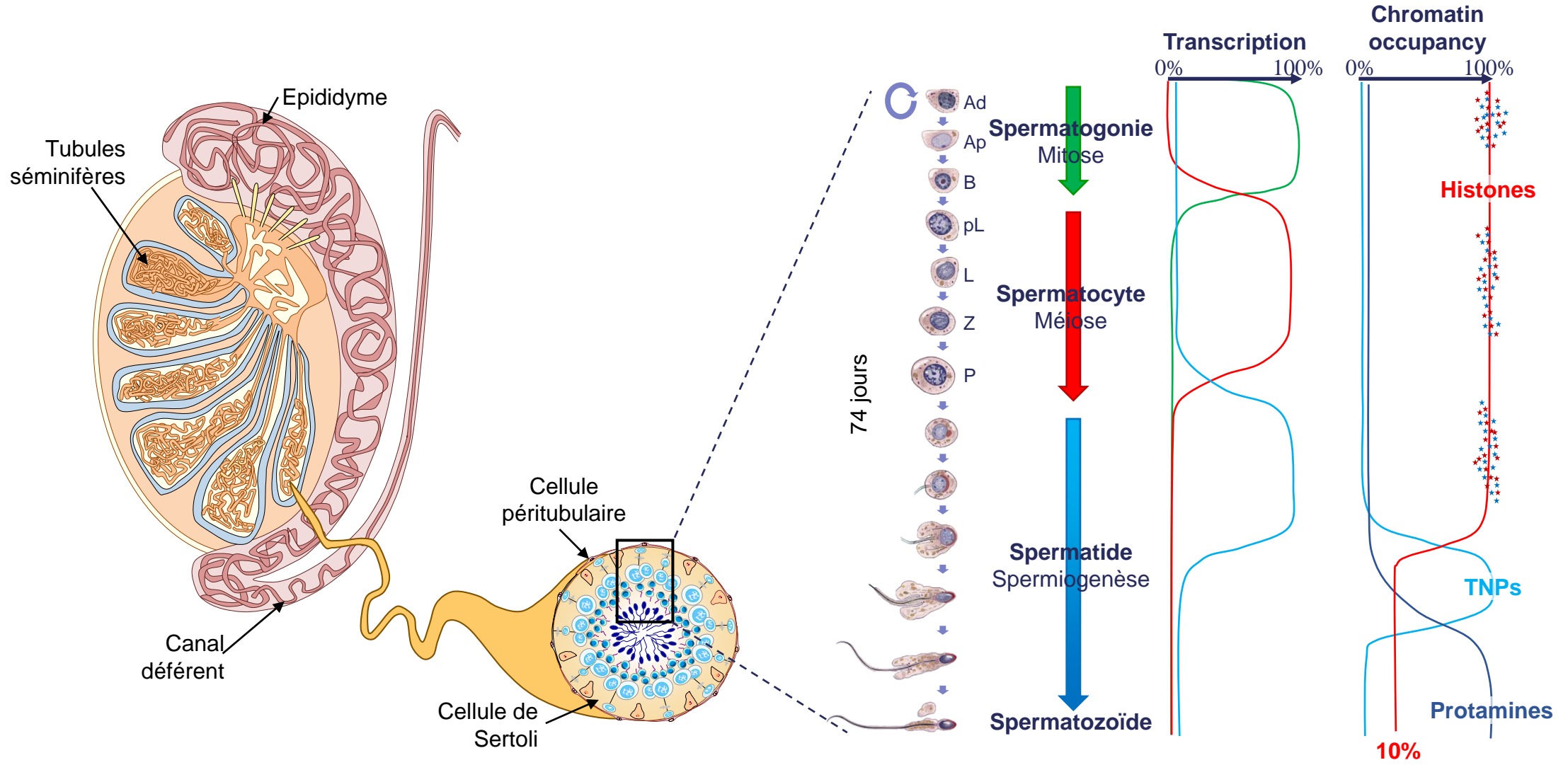
Hiver 1944-1945, famine aux Pays-Bas (Dutch 'Hunger Winter)

- Stress métabolique au cours de la grossesse
- Petits poids de naissance, pathologies cardiovasculaires des **enfants et des petits enfants**
- Altérations épigénétiques des gènes soumis à l'empreinte parentale

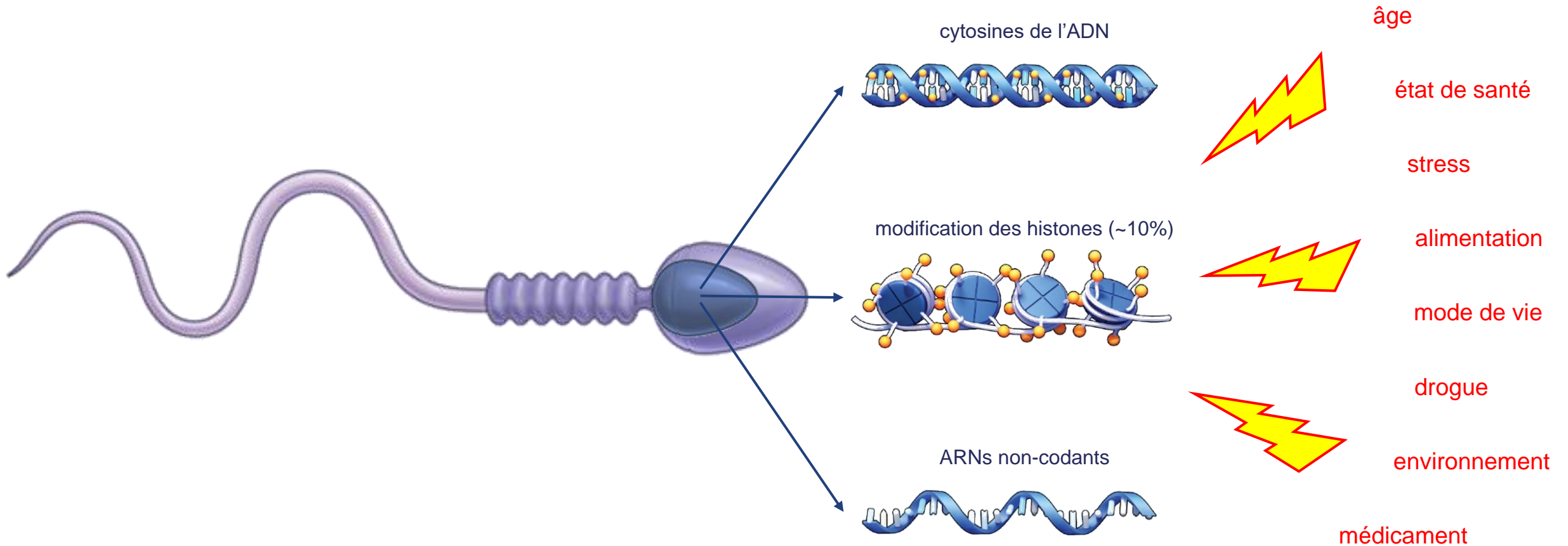
Heijmans et al., 2008, PNAS, <https://www.hongerwinter.nl>



L'épigénétique au cœur de la spermatogenèse



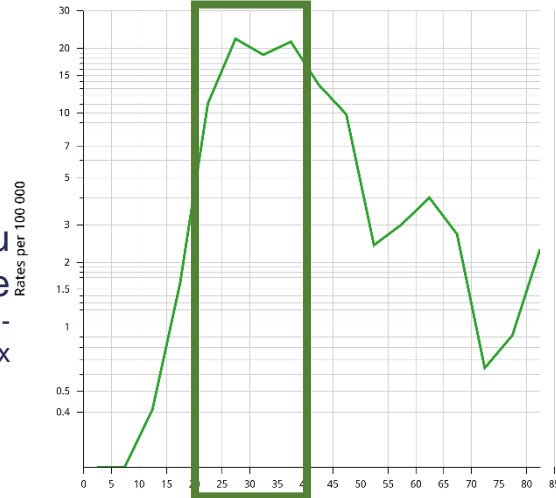
Noyau du spermatozoïde: vecteur de l'information (épi-)génétique paternelle



Cancers testiculaires et Lymphomes d'Hodgkin: deux cancers de l'homme jeune

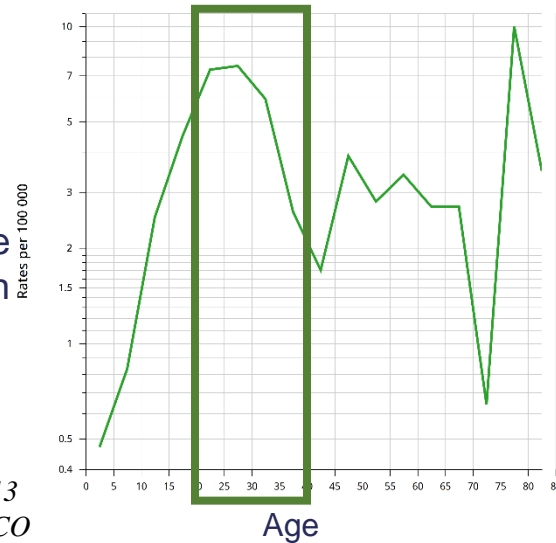
Cancers testiculaires et Lymphomes d'Hodgkin: deux cancers de l'homme jeune

Incidence



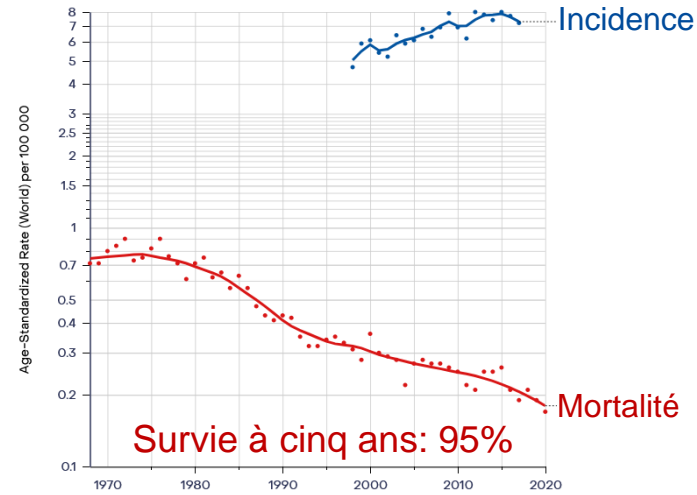
Cancers du testicule
Séminomateux et non-séminomateux

chirurgie (orchidectomie),
radiothérapie,
chimiothérapie BEP:
Bléomycine, Etoposide, cisPlatine



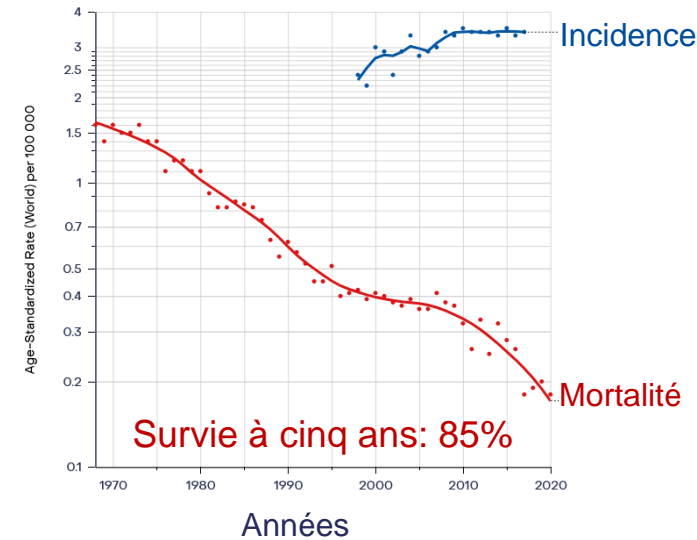
Lymphome d'Hodgkin

radiothérapie,
greffe de cellules souches,
immunothérapie,
chimiothérapie ABVD:
Adriamycine, Bléomycine,
Vinblastine, Dacarbazine



Survie à cinq ans: 95%

Taux de guérison élevé



Survie à cinq ans: 85%

« l'après cancer »

<http://gco.iarc.fr/>
Verhoeven et al., 2013
www.cancer.net. ASCO



Cancer, (chimio-/radio-)thérapies, cellules germinales et anomalies congénitales

- Chez l'homme et les rongeurs, le cancer et traitements induisent:

↓ n° et de la motilité des spermatozoïdes,

↑ aneuploïdie, ↑ fragmentation de l'ADN et ↓ compaction de la chromatine des spermatozoïdes

Wyrobek et al., 2005, J Natl Cancer Inst Monogr; Tempest et al 2008, Hum Reprod; O'Flaherty et al, 2008 Hum Reprod; O'Flaherty et al 2010, Fertil Steril

- Etudes longitudinales multicentriques (0 → 24 mois):



↑ aneuploïdie

Anomalies diminuent avec le temps

Bujan et al, 2013, Fertil Steril; Bujan et al, 2014, Fertil Steril; O'Flaherty et al, 2011, J Androl

Rives et al, 2017, Fertil Steril; Martinez et al, 2017, Fertil Steril

- Chez le rat exposé au BEP:

↑ dommages à l'ADN, ↓ survie de la descendance

Bieber et al, 2006, J Androl; Delbès et al, 2007, J Androl; Delbès et al, 2009, J Androl

- Chez l'homme:

↑ anomalies congénitales dans la descendance

Stahl et al, 2011, J Natl Cancer Inst; Al-Jebari Y et al 2019, PLoS Med; Al-Jebari et al, 2018, JNCI Cancer Spectr

Préservation de la fertilité au cœur de l'« après cancer »

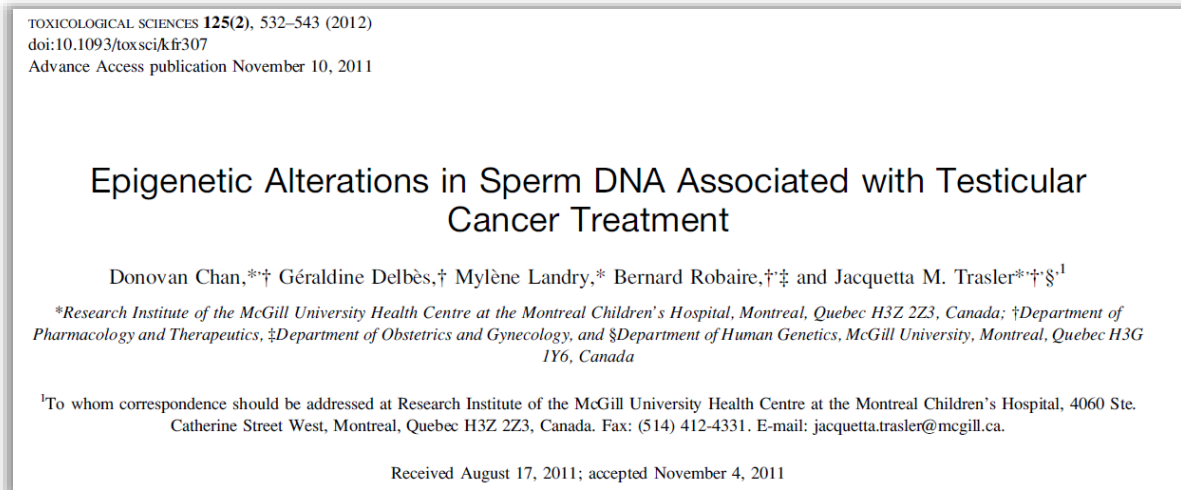
Gonadotoxicité des chimiothérapies et radiothérapies

Préservation de la fertilité quasi systématiquement proposé
aux patients *Rives et al, 2022, Eur. J. Cancer*

- Pubère: Cryopréservation des spermatozoïdes
- Prépubère: Préservation du tissu testiculaire

Qu'en est-il des altérations épigénétiques induites par les thérapies?

Nombre limité d'études → méthylation des cytosines de l'ADN



Chan et al, 2012, Toxicol Sci.

Rat exposés au BEP (2 doses), profil de méthylation suivi pour 3000 gènes:

Régions différentiellement méthylées (DMRs): 42 pour les spermatides et 101 pour les spermatozoïdes dont 11 observés à la fois dans les faibles et fortes doses

Majoritairement des hyperméthylations

Les gènes soumis à l'empreinte ne sont pas affectés

Et chez l'homme?

Shnorhavorian et al, 2017, PLoS One

RESEARCH ARTICLE

Differential DNA Methylation Regions in Adult Human Sperm following Adolescent Chemotherapy: Potential for Epigenetic Inheritance

Margarett Shnorhavorian¹, Stephen M. Schwartz², Barbara Stansfeld¹, Ingrid Sadler-Riggelman³, Daniel Beck³, Michael K. Skinner^{3*}

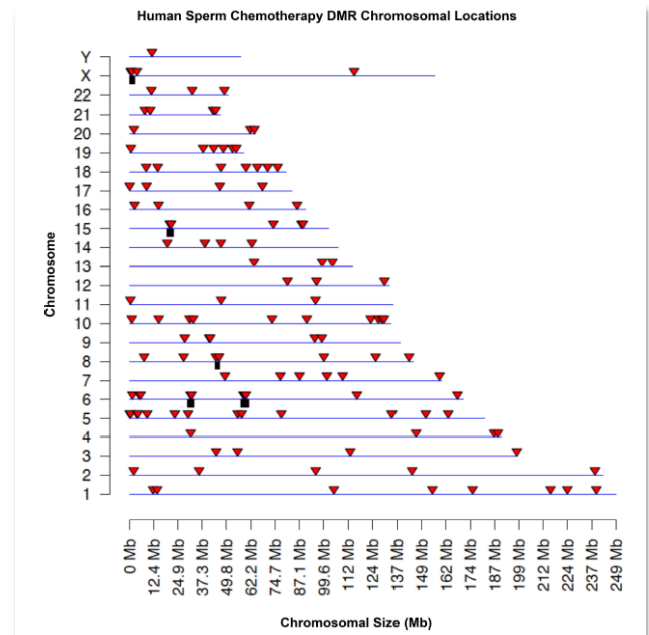
1 Seattle Children's Research Institute, Seattle, Washington, United States of America, 2 Fred Hutchinson Cancer Research Center, Seattle, Washington, United States of America, 3 Center for Reproductive Biology, School of Biological Sciences, Washington State University, Pullman, Washington, United States of America

* skinner@wsu.edu

« Sperm de patients traités il y a 10 ans (x9) » vs « sperm contrôle (x9) » → MeDIP-seq

↓ n° de spermatozoïdes
2831 DMRs détectés
Présents sur tous les chromosomes

Les gènes soumis à l'empreinte ne sont pas affectés



Et chez l'homme?

Chan et al, 2023, *Clinical Epigenetics*



Chan et al. *Clinical Epigenetics* (2023) 15:5
<https://doi.org/10.1186/s13148-022-01417-1> Clinical Epigenetics

RESEARCH Open Access

Sperm DNA methylome abnormalities occur both pre- and post-treatment in men with Hodgkin disease and testicular cancer

Donovan Chan¹, Kathleen Oros Klein², Antoni Riera-Escamilla³, Csilla Krausz^{3,4}, Cristian O'Flaherty^{1,5,6}, Peter Chan^{1,7}, Bernard Robaire^{6,8} and Jacquetta M. Trasler^{1,6,9*}

Check for updates

TC (x6) et HD (x7) vs contrôle (x7) → Illumina Human-Methylation 450 K BeadChip

11,525 sondes différentielles

Altérations épigénétiques à la fois avant et après la thérapie

Majorité d'hypométhylation

Diminution au cours du temps mais 1 patient avec une persistance des altérations 2 ans après le traitement

Les gènes soumis à l'empreinte ne sont pas affectés

Deux études de cas, une technologie RRBS

Neyroud et al, 2023, *Andrology*

Received: 10 January 2023 | Revised: 26 May 2023 | Accepted: 19 June 2023
DOI: 10.1111/andr.13485

ORIGINAL ARTICLE

Sperm DNA methylation dynamics after chemotherapy: a longitudinal study of a patient with testicular germ cell tumor treatment

Anne-Sophie Neyroud^{1,2} | Antoine Dominique Rolland¹ | Gwendoline Lecuyer¹ | Bertrand Evrard¹ | Nathan Alary¹ | Nathalie Dejuqc-Rainsford¹ | Louis Bujan^{3,4} | Célia Ravel^{1,2} | Frédéric Chalmel¹

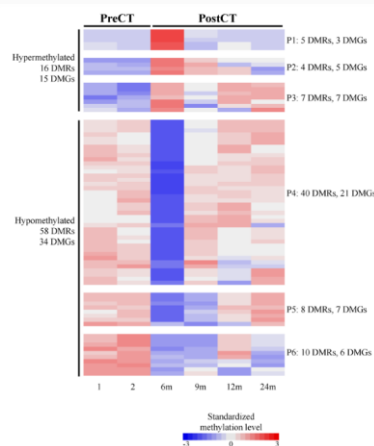
Cancer testiculaire

Etude longitudinale 0, 6, 9, 12 et 24 mois après la chimiothérapie (BEP)

74 DMRs après traitement:

- ➔ Majorité d'hypométhylation
- ➔ 7 gènes important pour le développement
- ➔ 17 DMRs au-delà de 24 mois!

Les gènes soumis à l'empreinte ne sont pas affectés



Lecuyer et al, in press, *Asian Journal of Andrology*

Recurrent spontaneous miscarriages from sperm after ABVD chemotherapy in a patient with Hodgkin's lymphoma: sperm DNA and methylation profiling

Gwendoline Lecuyer¹, Antoine D. Rolland¹, Anne-Sophie Neyroud^{1,2}, Bertrand Evrard¹, Nathan Alary¹, Clemence Genthon³, Nathalie Dejuqc-Rainsford¹, Célia Ravel^{1,2}, Jessika Moreau⁷, Nathalie Moinard^{4,6}, Mohamed Hadi Mohamed Abdelhamid^{5,7}, Christophe Klopp⁷, Louis Bujan^{4,5,*}, Frédéric Chalmel^{1,8,*}



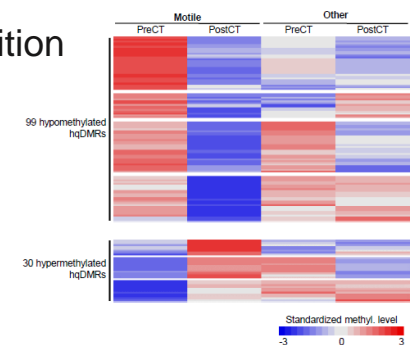
Lymphome de Hodgkin, fausses couches à répétition

Avant vs après traitement (ABVD) (>24 mois)

99 DMRs après traitement

- ➔ Majorité d'hypométhylation
- ➔ 14 gènes important pour le développement

Les gènes soumis à l'empreinte ne sont pas affectés



Message à retenir

L'épigénome des spermatozoïdes est sous l'influence de l' "environnement"

cancers testiculaires/lymphomes de Hodgkin et (radio-/chimio-)therapies induisent:

Baisse des paramètres spermatiques (n°, motilité, ...)

Anomalies génétiques (aneuploidy, fragmentation, compaction, ...)

Alterations épigénétiques (méthylation des cytosines de l'ADN)

réversible avec le temps (24 mois)

Vaste majorité des alterations épigénétiques = hypométhylation des cytosines

Certaines alterations épigénétiques persistent 24 mois après la thérapie

Certains gènes dont le profil de méthylation est affectée codent pour des protéines importantes pour le développement embryonnaire!

Les gènes soumis à l'empreinte "connus" ne sont pas affectés → rassurant?

Perspectives

Cohorte GAMATOX:

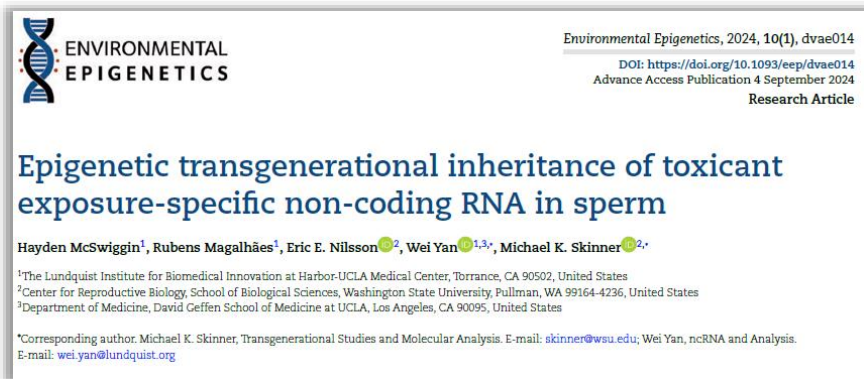
Etude longitudinale sur 27 patients atteints de cancer testiculaire à 0, 3, 6, 12, 24 mois après radiothérapie

Etudier d'autres cas de fausses couches récurrentes en lien avec un cancer et sa thérapie

Technologie: whole-genome bisulfite sequencing

Etude d'autres marques épigénétiques (ncRNAs)

→ méthode prometteuse pour l'évaluation des expositions toxiques transgénérationnelles



ENVIRONMENTAL EPIGENETICS

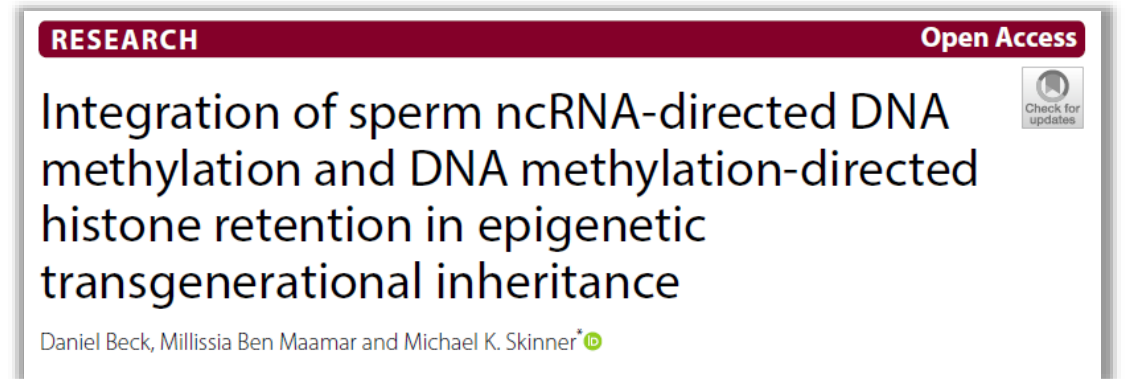
Environmental Epigenetics, 2024, 10(1), dvae014
DOI: <https://doi.org/10.1093/eep/dvae014>
Advance Access Publication 4 September 2024
Research Article

Epigenetic transgenerational inheritance of toxicant exposure-specific non-coding RNA in sperm

Hayden McSwiggin¹, Rubens Magalhães¹, Eric E. Nilsson², Wei Yan^{1,3*}, Michael K. Skinner^{2*}

¹The Lundquist Institute for Biomedical Innovation at Harbor-UCLA Medical Center, Torrance, CA 90502, United States
²Center for Reproductive Biology, School of Biological Sciences, Washington State University, Pullman, WA 99164-4236, United States
³Department of Medicine, David Geffen School of Medicine at UCLA, Los Angeles, CA 90095, United States

*Corresponding author: Michael K. Skinner, Transgenerational Studies and Molecular Analysis. E-mail: skinner@wsu.edu; Wei Yan, ncRNA and Analysis. E-mail: wei.yan@lundquist.org



RESEARCH **Open Access**

Integration of sperm ncRNA-directed DNA methylation and DNA methylation-directed histone retention in epigenetic transgenerational inheritance

Daniel Beck, Millissia Ben Maamar and Michael K. Skinner*

Check for updates

Merci pour votre attention

Gwendoline Lecuyer

Antoine D. Rolland

Bertrand Evrard

Nathan Alary

Célia Ravel

Nathalie Dejucq-Rainsford

Bernard Jégou



Louis Bujan

Nathalie Moinard

MHM Abdelhamid

Jessika Moreau

Clémence Genthon

Christophe Klopp

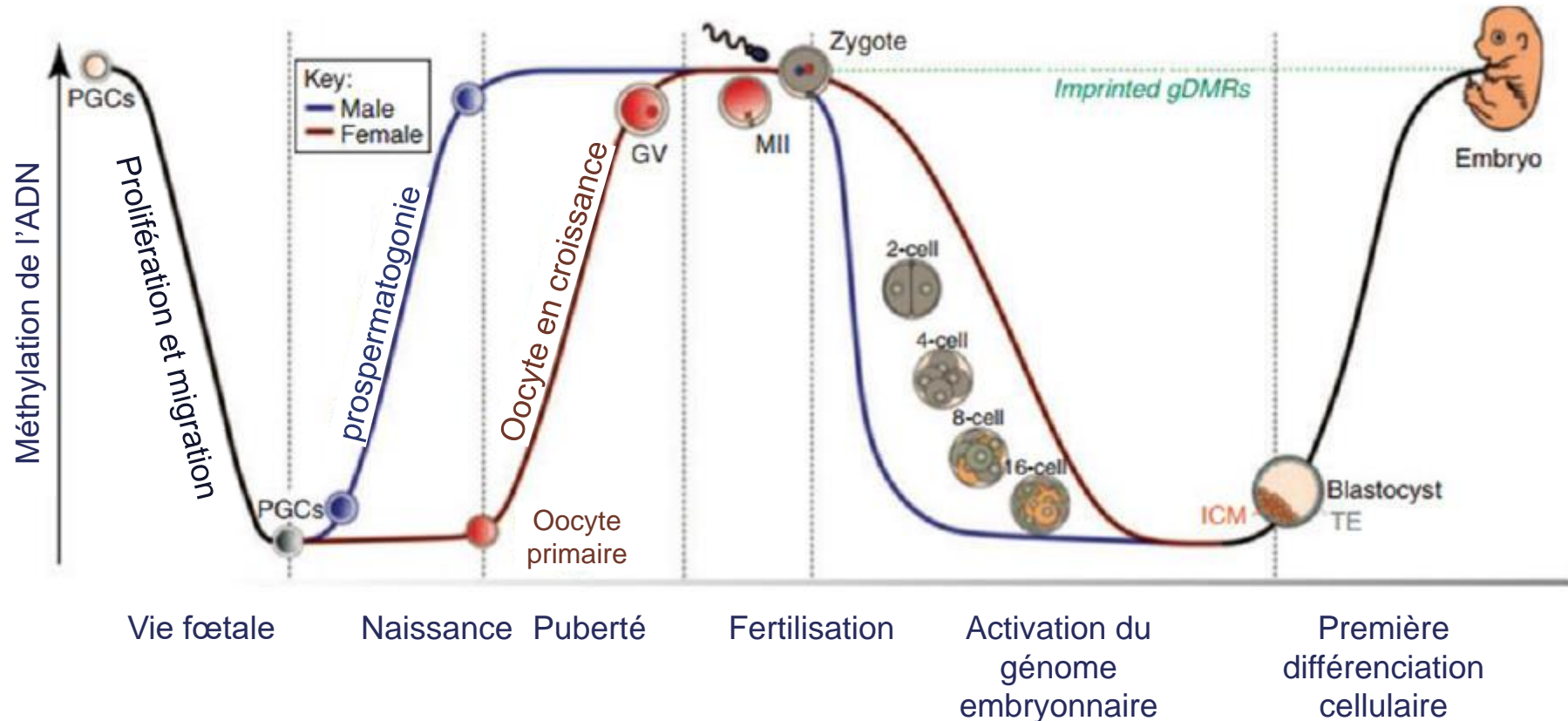


Les patients !

PARIS | 3 DÉCEMBRE 2024

**SÉMINAIRE RECHERCHE EN PRÉSERVATION DE LA FERTILITÉ
CHEZ LES PATIENTS ATTEINTS D'UN CANCER**

Reprogrammation épigénétique au cours du développement



Adapté de *Smallwood and Kelsey, 2012; Chavatte-Palmer et al, 2016*

