



**HAL**  
open science

# 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.

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

4  
5 **From metabolome to epigenome: example of multiscale**  
6 **analysis to study the effects of low dose exposure to**  
7 **uranium**

8 Stéphane Grison\* et Maâmar Souidi

9 Institut de Radioprotection et de Sûreté Nucléaire, PSE-SANTE, F 92262 Fontenay-aux-  
10 Roses Cedex France

11 **\* Auteur de correspondance :**

12 Stéphane Grison

13 Institut de Radioprotection et de Sûreté Nucléaire (IRSN), PRP-HOM/SRBE/ LRTOX, F-  
14 92262

15 Fontenay-aux-Roses CEDEX, France

16 Phone: 01.58.35.91.23

17 Fax: 01.58.35.84.67

18 E-mail : [stephane.grison@irsn.fr](mailto:stephane.grison@irsn.fr)

**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.

**MOTS CLES**

41 Uranium, faibles doses, omiques, épigénétique

43 **ABSTRACT**

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

59 **KEY WORDS**

60 Uranium, low doses, omics, epigenetics

61

## 62 INTRODUCTION

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

## 74 **L'uranium**

75 L'uranium a été découvert en 1789 par le chimiste allemand Martin Heinrich Klaproth et ses  
76 propriétés radioactives ont été mises en évidence en 1896 par le physicien français Henri  
77 Becquerel. Il est présent dans la croûte terrestre à plus ou moins forte concentration (~0.5  
78 mg.kg<sup>-1</sup> dans les bassins sédimentaires et ~10000 mg.kg<sup>-1</sup> au niveau des gisements uranifères).  
79 En Europe, sa concentration médiane dans les sols est estimée à 2 mg.kg<sup>-1</sup> [2]. Dans les eaux  
80 souterraines, cette concentration est comprise entre 0.1 et 3300 µg.L<sup>-1</sup>. De masse volumique  
81 égale à 19 g.cm<sup>-3</sup> et de numéro atomique 92, il fait partie de la famille chimique des actinides.  
82 C'est un métal lourd dont les isotopes sont tous radioactifs (la période radioactive des isotopes  
83 variant de plusieurs centaines de millions à plusieurs milliards d'années). Les principaux  
84 radio-isotopes de l'uranium sont l'uranium-234, 235 et 238. À l'état naturel l'<sup>238</sup>U représente  
85 99,275 % de la masse du minerai extrait contre 0.719 % pour l'isotope <sup>235</sup>U et 0.0057 % pour  
86 le <sup>234</sup>U. L'<sup>235</sup>U est l'isotope le plus énergétique (il est fissionable). Après raffinement du minerai

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

### 93 **Pollutions environnementales et sources d'exposition chroniques à faibles doses**

94 Le niveau de diffusion de l'uranium dans l'environnement (sols et organismes vivants)  
95 dépend essentiellement de son niveau d'oxydation mais aussi des complexes qu'il peut former  
96 avec la matière organique. Il est très mobile sous sa forme soluble d'ion uranyle ( $\text{UO}_2^{2+}$ ).  
97 Soluble dans les eaux de surface, il peut se retrouver sous forme hydroxylée pour des pH  
98 supérieurs à 6 ou carbonatée au-delà de pH 8. Il peut aussi facilement se complexer aux ions  
99 carbonates et sulfates avec lesquels il crée des zones d'accumulation dans les sols et peut se  
100 lier à des molécules organiques comme les protéines. En milieu biologique, l'uranium se  
101 trouve sous la forme d'ion uranyle. Dans les végétaux, sa teneur est étroitement liée à la  
102 nature des plantes et aux teneurs en phosphates, sulfates, carbonates et matières organiques  
103 des sols. Chez l'homme, l'absorption quotidienne liée à l'ingestion de produits alimentaires et  
104 de l'eau de boisson est estimée entre 1 et  $4\ \mu\text{g}\cdot\text{j}^{-1}$  [7]. Le corps humain contient naturellement  
105 environ  $90\ \mu\text{g}$  d'uranium provenant de l'eau et de l'alimentation [8].

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

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

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

### 126 **Toxicité et aspects sanitaires des expositions environnementales**

127 En cas de contamination interne, l'uranium passe dans la circulation sanguine en plus ou  
128 moins grande proportion selon sa voie d'entrée dans l'organisme (ingestion, inhalation,  
129 blessure cutanée). Il est ensuite très rapidement distribué vers différents tissus biologiques  
130 avant d'être éliminé dans l'urine. Environ 60 % de la quantité présente dans la circulation  
131 sanguine sera excrétée en 24 heures alors que les 40 % restants seront retenus dans les tissus  
132 avant d'être progressivement excrétés dans les urines. L'uranium est principalement retenu au  
133 niveau des os (10 à 36 %) et des reins (10 à 25 %) et cette rétention en fait les deux  
134 principales cibles biologiques de la toxicité de l'uranium [12]. Sa toxicité dépend de sa  
135 composition isotopique, de la quantité incorporée (dose) et de son temps de rétention dans  
136 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

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

## 188 **La métabolomique**

189 Pour compléter ces données, une étude métabolomique (criblage de l'ensemble des  
190 métabolites mesurables dans milieu biologique) a été lancée par contamination chronique de  
191 rats à dose non-toxique d'uranium, pour en se plaçant à l'échelle du métabolome (considéré  
192 comme l'épreinte moléculaire du phénotypique d'un individu), en appréhender l'effet dans sa  
193 globalité. Les résultats ont montré qu'une contamination chronique à faible dose d'uranium (2  
194 µg absorbé par jour pendant 9 mois), entraînait une modification significative du métabolome  
195 urinaire. 95 métabolites sur les 1376 détectées avaient un niveau de concentration différent  
196 chez les animaux exposés à l'uranium par rapport aux non-exposés [34]. Ces résultats ont  
197 montré que cette technique d'analyse à large spectre pouvait apporter des données  
198 complémentaires aux différentes études réalisées sur les effets des faibles doses d'uranium  
199 [3]. Un second protocole a ensuite été élaboré pour fournir la preuve de principe que la  
200 métabolomique était pertinente pour réaliser des études dans la gamme des faibles doses.  
201 Sachant que des relations dose-réponse non monotones (linéaires, non linéaires avec ou sans  
202 seuil) avaient été montrées expérimentalement [35, 36], il s'agissait d'étudier dans ce  
203 protocole d'étude, la relation dose-réponse associée au temps d'exposition à l'uranium pour  
204 rechercher les limites de sensibilité des rats à l'uranium. Finalement, dans le cadre de la  
205 recherche de marqueurs biologiques prédictifs ou précoces d'effets indésirables, cette  
206 approche permettait d'identifier les voies métaboliques susceptibles d'être significativement  
207 impactées par une exposition chronique à dose non toxique d'uranium [37].

## 208 Effet du temps, effet de la dose

209 Les rats ont été contaminés depuis leur naissance par ingestion d'uranium (via le lait maternel  
210 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 ( $40 \text{ mg.L}^{-1}$ ) [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 (cité  
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 ( $0.15 \text{ mg.L}^{-1}$ ) 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-Methyl-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 ROC<sup>1</sup> (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).

---

<sup>1</sup> 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%.

## 258 **La transcriptomique**

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

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

## 273 **L'analyse multiomique**

274 Les analyses multiomiques permettent à la fois d'appréhender le vivant dans son ensemble et  
275 dans sa complexité mécanistique. En réalisant une étude des relations existantes entre les  
276 différents niveaux moléculaires analysés (transcriptomique et métabolomique), il est possible  
277 d'accroître le niveau d'information et de qualifier plus finement les mécanismes d'action  
278 engagés par la cellule en réponse à un stress. Cette approche permet notamment de mettre en  
279 évidence une partie des mécanismes de régulation géniques et métaboliques qui contribuent à  
280 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.

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

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

## 345 **CONCLUSIONS**

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

---

<sup>2</sup> 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].

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

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

#### 411 **REMERCIEMENTS**

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

#### 414 **LIENS D'INTERETS :**

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

#### 416 **EXPERIMENTATION ANIMALES**

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

#### 423 **REFERENCES**

424

- 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.

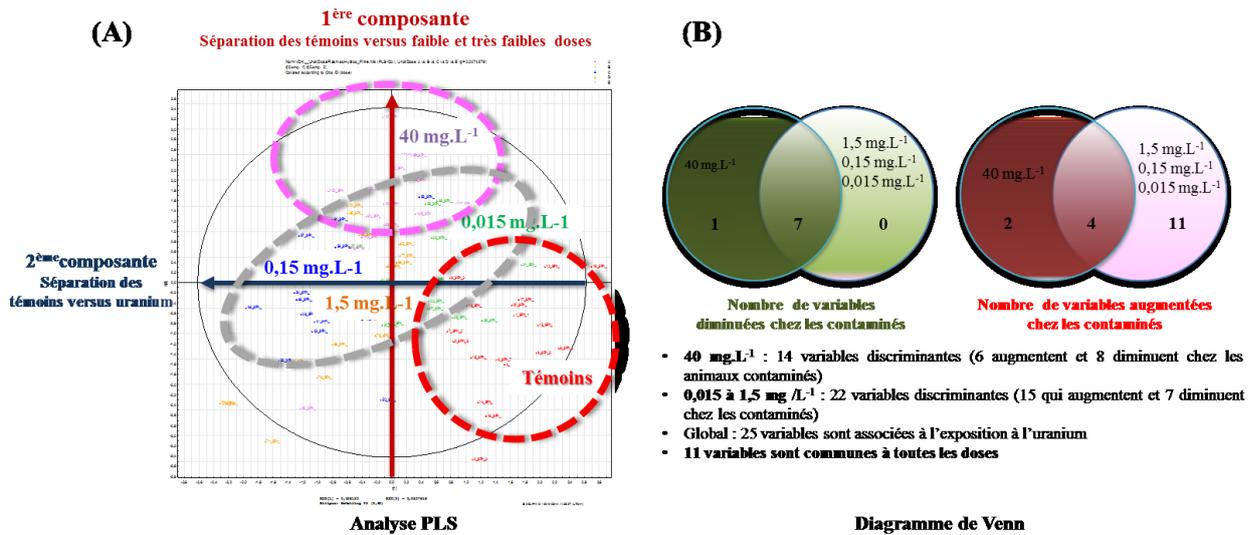
- 477 23. Faa, A., et al., *Depleted Uranium and Human Health*. Curr Med Chem, 2018. **25**(1): p. 49-  
478 64.
- 479 24. Strand, L.A., J.I. Martinsen, and E.K. Borud, *A 5-Year Continued Follow-up of Cancer Risk  
480 and All-Cause Mortality Among Norwegian Military Peacekeepers Deployed to Kosovo  
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.

- 531 48. Jones, P.A., *Functions of DNA methylation: islands, start sites, gene bodies and beyond*. Nat  
532 Rev Genet, 2012. **13**(7):p. 484-92.
- 533 49. Hoffman, D.J., R.M. Reynolds, and D.B. Hardy, *Developmental origins of health and disease:  
534 current knowledge and potential mechanisms*. Nutr Rev, 2017. **75**(12):p. 951-970.
- 535 50. Lodge, C.J., et al., *Grandmaternal smoking increases asthma risk in grandchildren: A  
536 nationwide Swedish cohort*. Clin Exp Allergy, 2017.
- 537 51. Sen, A., et al., *Multigenerational epigenetic inheritance in humans: DNA methylation  
538 changes associated with maternal exposure to lead can be transmitted to the  
539 grandchildren*. Sci Rep, 2015. **5**: p. 14466.
- 540 52. Grison, S., et al., *Low dose of uranium induces multigenerational epigenetic effects in rat  
541 kidney*. Int J Radiat Biol, 2018. **15**: p. 1-10.
- 542 53. Liu, J., et al., *A study of the influence of sex on genome wide methylation*. PLoS One, 2010.  
543 **5**(4):p. e10028.
- 544 54. Pogribny, I., et al., *Dose-dependence, sex- and tissue-specificity, and persistence of  
545 radiation-induced genomic DNA methylation changes*. Biochem Biophys Res Commun,  
546 2004. **320**(4):p. 1253-61.
- 547 55. Junien, C., A. Gabory, and L. Attig, *[Sexual dimorphism in the XXI(st) century]*. Med Sci  
548 (Paris), 2012. **28**(2): p. 185-92.
- 549 56. Gochfeld, M., *Sex Differences in Human and Animal Toxicology*. Toxicol Pathol, 2017.  
550 **45**(1):p. 172-189.
- 551 57. Perez-Cerezales, S., et al., *Early sex-dependent differences in response to environmental  
552 stress*. Reproduction, 2017.
- 553 58. Bourc'his, D. and C. Proudhon, *Sexual dimorphism in parental imprint ontogeny and  
554 contribution to embryonic development*. Mol Cell Endocrinol, 2008. **282**(1-2): p. 87-94.
- 555 59. Wild, C.P., *The exposome: from concept to utility*. Int J Epidemiol, 2012. **41**(1): p. 24-32.
- 556 60. Marano, F. and R. Barouki, *La toxicologie prédictive : quel apport pour l'évaluation des  
557 risques en santé environnementale ? Environ Risque Santé*, 2011. **10**: p. 404-11.

558

559 Légendes des figures

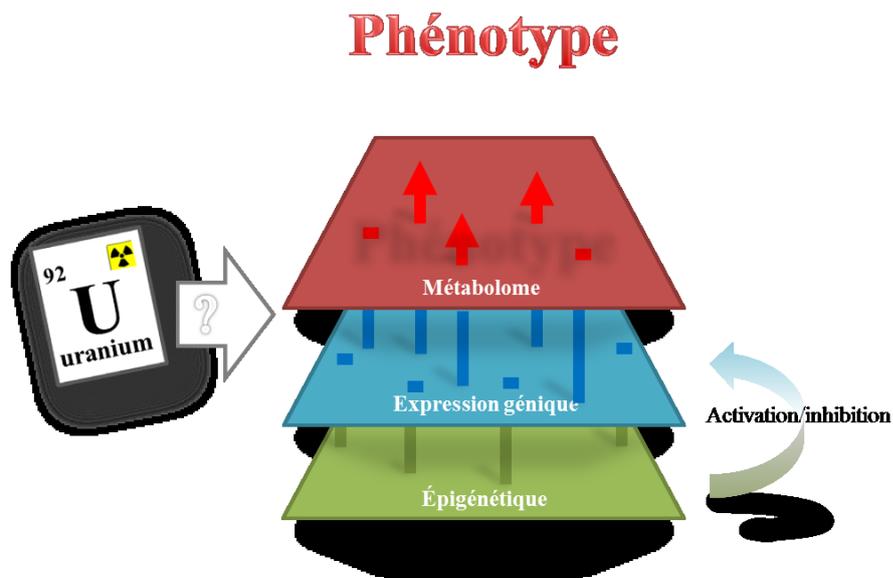
560 **Figure 1 : A)** analyse PLS des spectres métabolomiques urinaires de l'ensemble des animaux  
561 contaminés aux différentes doses d'uranium. Cette représentation montre l'existence d'une  
562 relation dose-effet pour laquelle les animaux contaminés par la solution la plus concentrée en  
563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



568

569 **Figure 2** : Représentation multiéchelle des systèmes moléculaires de régulation : au niveau de  
 570 la cellule l'expression de l'information génétique est régulée par un ensemble de mécanismes  
 571 épigénétiques. L'expression de cette information est en partie seulement traduite pour  
 572 produire des protéines structurales et fonctionnelles. Ces dernières peuvent, si elles sont  
 573 actives, être à l'origine de mécanismes biochimiques de régulation qui conduisent à la  
 574 formation des métabolites. L'ensemble des métabolites présents dans un fluide ou un tissu  
 575 biologique à un instant donné constitue le métabolome. Ce dernier représente le stade ultime  
 576 des systèmes moléculaires de régulation. Il est considéré comme l'empreinte moléculaire du  
 577 phénotype d'un individu. La connaissance des liens mécanistiques qui conduisent à une  
 578 maladie permettent à la fois de connaître son origine mais aussi d'établir des liens  
 579 mécanistiques entre plusieurs maladies (concept d'AOP<sup>3</sup>).

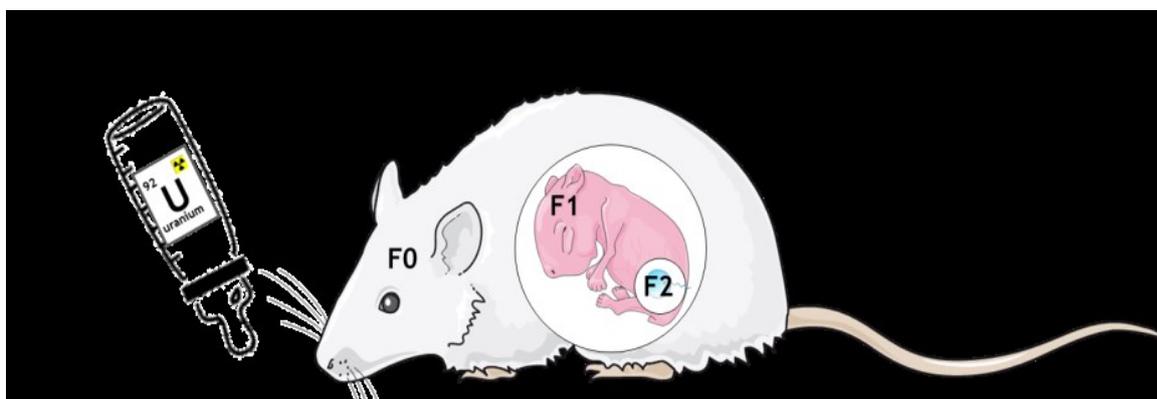
<sup>3</sup> Adverse Outcome Pathway : terme anglo-saxon se rapportant à la recherche d'une représentation structurée d'événements biologiques qui conduisent à des effets indésirables. Cette approche semble pertinente pour l'évaluation des risques



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 Dohad<sup>4</sup>).

589



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