

## L'Épigénétique... Un nouveau domaine à explorer pour la filière bovine

JAMMES H. (1, 2), KIEFER H. (1, 2), DEVINOY E. (3), BEAUJEAN N. (1, 2), CHAVATTE-PALMER P. (1, 2)

(1) INRA, UMR1198 Biologie du Développement et Reproduction, F-78350 Jouy-en-Josas, France

(2) ENVA, F-94700 Maisons Alfort, France

(3) INRA, UR1196 Génomique et Physiologie de la Lactation, F-78350 Jouy en Josas, France

### RESUME

Les phénotypes observés chez les animaux de rente sont déterminés en partie par le génome qui a fait l'objet d'une exploration produisant des quantités massives d'informations génomiques intégrées dans la prédiction de mérite génétique avec une grande exactitude. Cependant, un nouveau champ d'investigation a révélé l'importance de prendre en compte des mécanismes épigénétiques, qui peuvent refléter des effets environnementaux importants et améliorer notre compréhension de la construction des phénotypes. L'épigénétique se réfère aux changements héréditaires de l'activité génique en l'absence de toute modification de la séquence de l'ADN génomique. Des mécanismes moléculaires sous-jacents orchestrent la réorganisation de chromatine contrôlant ainsi la transcription des gènes. Ici, nous fournissons des exemples tirés de la littérature scientifique publiée soulignant que l'apposition des marques épigénétiques sur le génome peut être séquentielle, réversible et/ou héréditaire. Ces marques jouent un rôle majeur dans de nombreux processus biologiques tels que la différenciation gamétique, le développement de l'embryon ou encore la différenciation et le développement fonctionnel de la glande mammaire. Cette revue soulignera que le phénotype d'un individu est la résultante d'interactions complexes entre le génotype et l'environnement façonnant tout au long de la vie l'épigénome. Les marques épigénétiques constituent alors une véritable mémoire des événements de la vie incluant la vie *in utero* et assurent l'intégration multi-générationnelle et trans-générationnelle des effets de l'environnement. Nous proposons ainsi d'intégrer les informations concernant l'état de l'épigénome et de les considérer comme de nouvelles variables dans la sélection pour préserver la durabilité de l'élevage.

### Epigenetics... A new field to explore for bovine breeding

JAMMES H. (1, 2), KIEFER H. (1, 2), DEVINOY E. (3), BEAUJEAN N. (1, 2), CHAVATTE-PALMER P. (1, 2)

(1) INRA, UMR1198 Biologie du Développement et Reproduction, F-78350 Jouy-en-Josas, France

(2) ENVA, F-94700 Maisons Alfort, France

### SUMMARY

Phenotypes observed in cattle are determined partly by the genome that was largely explored using massive amounts of genomic information incorporated into the prediction of genetic merit providing higher predictive accuracy. However, a new field of investigation has revealed the importance of taking into account epigenetic mechanisms that can reflect important environmental effects, to improve our understanding of these phenotypes. Epigenetics refers to the inheritable changes of genomic activities in the absence of any modification of the genomic DNA sequence. Underlying molecular mechanisms orchestrate chromatin remodelling, which leads to gene transcription or silencing. Here, we provide evidence from the published scientific literature that the epigenetic marks are apposed onto the genome in a sequential, reversible and/or inheritable manner and play a major role in different biological processes, such as gametic differentiation, embryo development as well as differentiation and functioning of the mammary gland. This review will also highlight that the phenotype of an individual is the result of complex interactions between the genotype and current, past and ancestral environments leading to a lifelong remodelling of its epigenome. The epigenetic marks constitute the memory of previous events along the lifecycle, including at the *in utero* stage and ensure the integration of multigenerational or transgenerational effects of the environment. We therefore propose to integrate the molecular data describing the epigenomic states and consider them as new variables in selection to preserve the sustainability of animal breeding.

### INTRODUCTION

Depuis deux décennies, les données scientifiques dans le domaine de l'**Épigénétique** sont en pleine expansion. L'intérêt pour cette nouvelle discipline est suscité par la possibilité qu'elle présente, de décrypter le fonctionnement du génome en tenant compte de l'influence de l'environnement sur la réalisation d'un potentiel génétique.

Nous définissons l'**Épigénétique**, comme l'étude de l'ensemble des marques apposées sur le génome, orchestrant une organisation du patrimoine génétique en domaines actifs et non actifs, permettant ainsi une sélection et une lecture dirigée de l'information génétique. Les marques épigénétiques induisent des changements de l'expression des gènes sans modification de la séquence de l'ADN (pas de mutation). Ces marques ont comme propriété d'être à la fois, stables et héréditaires au cours des divisions cellulaires (mitose et même dans certains cas méiose), mais

aussi modifiables et/ou réversibles en fonction de l'environnement et ainsi d'avoir des conséquences, à plus ou moins long terme.

Le développement, de la fécondation à la naissance d'un individu, requiert des phases importantes de prolifération et de différenciation cellulaires qui aboutissent à l'organogénèse et à la mise en place du phénotype. Bien que toutes les cellules d'un individu possèdent le même patrimoine génétique, elles ne sont pas identiques. Ceci suppose que les diverses cellules composant un individu n'utilisent pas l'information génétique de la même façon et qu'elles expriment des profils de gènes dépendants du stade physiologique et du type cellulaire. Cette sélection de l'information génétique est orchestrée par l'apposition de marques épigénétiques, activatrices ou inhibitrices, spécifiques, constituant la mémoire de la différenciation cellulaire, ou **épigénome** cellulaire. Les modifications dans

l'expression des gènes qui en résultent, sont transmissibles au cours des divisions cellulaires.

Par ailleurs, on dispose de très nombreuses données attestant que la nutrition maternelle (carences, famines, surnutrition) doit être prise en compte dès les stades précoces de développement de l'embryon puis du fœtus car elle a des effets à long terme sur le phénotype des animaux et la santé chez l'homme. Chaque fenêtre du développement présente alors une susceptibilité distincte aux différents facteurs environnementaux. Chez l'homme, les maladies chroniques non transmissibles (souvent multigéniques et particulièrement dépendantes de l'environnement) peuvent ainsi prendre racine précocement lors des périodes pré- ou péri-conceptionnelles, de la vie *in utero* ou périnatale (Cooper et al., 2003 ; Ramos et al., 2008).

Dans le cadre de l'élevage bovin, les importants progrès de la sélection animale de ces dernières décennies sont basés sur la prise en considération de la génétique des animaux (génotype) par des techniques de plus en plus performantes (ciblant les microsatellites, puis les polymorphismes de séquence) et mises en œuvre de plus en plus tôt (génotypage des embryons avant transfert). Cependant, pour que le phénotype (caractère d'intérêt pour l'éleveur : production laitière, développement musculaire, reproduction) s'exprime à partir de ce génotype sélectionné, il est nécessaire de réunir toutes les conditions environnementales adéquates. Il est donc aujourd'hui indispensable de caractériser les marques épigénétiques intégrant ces paramètres environnementaux afin de contrôler au mieux le potentiel génétique de ces animaux hautement sélectionnés. Après avoir brièvement décrit les processus épigénétiques, nous évoquerons, à travers plusieurs exemples, le rôle majeur de l'épigénome dans la construction du phénotype (de la différenciation cellulaire à la mise en place d'un caractère d'intérêt agronomique) soulignant ainsi sa plasticité et son implication dans l'intégration des événements environnementaux.

## 1. MARQUES ET MECANISMES EPIGENETIQUES CONTROLANT LA DIFFERENCIATION CELLULAIRE

### 1.1 PROCESSUS EPIGENETIQUES ET ORGANISATION DE LA SELECTION DE L'INFORMATION GENETIQUE

Les marques épigénétiques n'entraînent pas de modification de la séquence d'ADN mais régulent les profils d'expression des gènes et par conséquent conditionnent le phénotype. Les principaux processus **épigénétiques** comprennent la méthylation et l'hydroxyméthylation des cytosines de l'ADN, des modifications post traductionnelles des histones au cœur des nucléosomes (plus de 100 modifications sont décrites), la production et l'intervention de petits et grands ARN non codants. Les interrelations entre ces différents partenaires, ainsi que celles avec de nombreuses protéines régulatrices et enzymes impliqués dans la transcription, aboutissent à la création de domaines chromatiniens aux capacités de transcription différentes (domaine de répression ou d'activation des gènes), pilotant ainsi l'expression génique responsable de l'identité cellulaire à un moment donné.

#### 1.1.1. Le code des histones.

Que la molécule d'ADN puisse être contenue dans un noyau repose sur sa compaction due à son enroulement autour de structures protéiques, les histones formant les nucléosomes. Une abondante littérature (Kouzarides 2007) démontre que les histones sont en fait les cibles de nombreuses modifications covalentes post traductionnelles, dont les mieux caractérisées sont la méthylation, l'acétylation, la desacétylation et la phosphorylation. Les modifications des histones jouent le rôle de « marques » épigénétiques pouvant interagir avec différentes classes de protéines nucléaires impliquées dans la machinerie régulatrice de l'expression des gènes. De ce fait, ces modifications portées par les histones

dans une région donnée forment un véritable code, « le code des histones ». Ce code des histones participe à l'orchestration d'un ensemble d'interactions histones-protéines-ADN, module l'architecture de la chromatine sous-tendant ainsi le contrôle de l'expression des gènes. Ces mécanismes sont largement conservés à travers l'évolution.

#### 1.1.2. La méthylation de l'ADN.

La méthylation de l'ADN est une des modifications épigénétiques les mieux caractérisées participant à la « mémoire » cellulaire (Holliday et Pugh, 1975). La méthylation consiste en un transfert d'un groupe méthyl (CH<sub>3</sub>) à partir du donneur universel S-adenosylméthionine (SAM) sur le carbone en position 5 des résidus cytosine (5meC), impliqués dans un dinucléotide CpG. La méthylation n'affecte que 3 à 8% des cytosines chez les mammifères contre 50% chez les plantes. Aucune méthylation n'est détectée chez la drosophile alors que chez l'abeille, 0.5% du génome est méthylé et joue notamment un rôle décisif dans le déterminisme « Reine/Ouvrière » en réponse à l'absorption de gelée royale.

## 1.2 ARCHITECTURE DE LA CHROMATINE

Les connaissances actuelles dans le domaine de l'organisation du génome au sein des noyaux de cellules somatiques suggèrent par ailleurs que l'organisation tridimensionnelle de la chromatine serait un niveau supplémentaire de régulation transcriptionnelle des gènes (Schneider and Grosschedl, 2007). L'espace nucléaire est en effet composé de compartiments de structures et de fonctionnalités bien distinctes et à proximité desquels les gènes sont localisés en fonction de leur état transcriptionnel. Ainsi, des gènes co-exprimés, même s'ils sont linéairement éloignés dans le génome ou situés sur des chromosomes différents, peuvent s'associer à la même machinerie de transcription et lorsque l'expression d'un gène est modifiée, sa localisation nucléaire peut varier (Kress et al., 2011).

## 1.3. DIFFERENCIATION CELLULAIRE ET PHENOTYPE

La différenciation cellulaire est donc basée sur la sélection de l'information génétique à exprimer par la mise en place de marques épigénétiques spécifiques. A travers quelques exemples, nous en soulignerons l'importance et l'implication dans la réalisation du phénotype.

### 1.3.1 L'Épigénome des gamètes et fertilité.

La gamétogénèse est accompagnée de la mise en place d'un **dimorphisme épigénétique** (Bourc'his et al., 2008). En effet, spermatozoïde et ovocyte sont des cellules hautement différenciées présentant chacun des marques épigénétiques spécifiques. Une des conséquences les plus évidentes de ce dimorphisme épigénétique est l'existence des gènes soumis à l'empreinte parentale. Pour cette famille de gènes, l'origine parentale de l'allèle conditionne l'expression, du fait de marques épigénétiques apposées de manière différentielle au cours de la spermatogénèse et de l'ovogénèse. Certains gènes sont d'expression paternelle, d'autres d'expression maternelle, mais ils jouent tous un rôle important dans le développement foeto-placentaire et les relations mère-descendance. Chez l'homme, toute dérégulation de ce dosage allélique strict est associée à des syndromes pathologiques (Soejima et Higashimoto, 2013). Chez les animaux de rente, certains loci ont été associés à l'apparition de phénotypes revêtant un intérêt majeur pour l'élevage (hypertrophie musculaire chez les porcins (Braunschweig et al., 2004) et les ovins (Cockett et al., 1994 ; Vuocolo et al., 2007).

#### 1.3.1.1. Chez la femelle, l'acquisition de la maturité épigénétique de l'ovocyte coïncide avec l'acquisition des compétences de développement.

Chez la femelle, la maturation épigénétique s'acquiert après la puberté au cours du développement folliculaire, à chaque cycle

oestrien. Les noyaux d'ovocytes subissent une apposition de la méthylation de l'ADN. Le noyau de l'ovocyte est largement associé à une méthylation (mono, di et tri-méthylation) sur les lysines 4, 9 et 27 des histones 3 (H3K4, H3K9 et H3K27). La tri-méthylation de H3K9 est même une marque spécifique du noyau ovocytaire que l'on peut suivre en post fécondation au niveau du pronucléus maternel (Pichugin et al., 2010).

Il est à noter que les protocoles de super-ovulation et de synchronisation (utilisés chez la femme en cas de fécondation *in vitro*, ou chez les vaches avant insémination artificielle) stimulent la sortie d'un pool d'un nombre important de follicules porteurs d'ovocytes présentant une variabilité de la maturité épigénétique.

La capacité de développement des ovocytes des génisses pré-pubères est généralement réduite comparée à celle des ovocytes des vaches adultes. Dieterich et collaborateurs démontrent que certaines séquences (séquences satellites) présentent une forte variabilité de méthylation dépendante de l'âge et du traitement de maturation *in vitro* des ovocytes (Dieterich et al., 2012). De fait, les propriétés ovocytaires, les compétences au développement post fécondation et la maturité épigénétique s'acquièrent de manière concomitante.

### 1.3.1.2. Contributions épigénétiques du spermatozoïde et implication pour l'embryon.

Le spermatozoïde a une structure unique de la chromatine : sa compaction y est extrême au regard de tous les types de cellules eucaryotes connus. Cette compaction, mise en place progressivement tout le long de la gamétogenèse définit un blocage de l'activité transcriptionnelle (pas d'expression des gènes) et assure une protection du patrimoine génétique à transmettre à l'embryon. Cette compaction implique différents processus moléculaires épigénétiques, pouvant être transmis à l'embryon lors de la fécondation par le noyau haploïde mâle et se déclinant selon cinq classes : i) la méthylation de l'ADN, ii) les histones spécifiques de la compaction de l'ADN du spermatozoïde, iii) les autres protéines associées à l'ADN (protamines), iv) les petits ARN non codants et v) l'organisation en domaines de l'ADN.

Que le profil de méthylation de l'ADN, acquis progressivement à partir du stade spermatocyte soit clairement impliqué dans la fertilité ne fait aujourd'hui aucun doute (Zamudio et al., 2008 ; Carrell 2010 ; Boissonnas et al., 2013). De nombreuses études démontrent que des perturbations de la méthylation mesurées de façon globale (Houshdaran et al., 2007 ; Aston et al., 2012 ; Pacheco et al., 2011) ou plus spécifiquement au niveau de certains gènes sont associées à des sub- ou infertilités (Marques et al., 2008 ; Boissonnas et al., 2010).

Il est aussi démontré que la méthylation de l'ADN en contribuant à la compaction, joue un rôle important dans la protection contre des dommages de l'ADN pouvant être provoqués lors de la cryoconservation du sperme utilisé pour l'insémination artificielle. Par ailleurs, en analysant deux régions génomiques, Carnavalho et collaborateurs ne trouvent pas de différences de méthylation entre spermatozoïdes sexés par tri en cytométrie en flux et non triés (Carvalho et al., 2012).

Plusieurs études ont démontré que le spermatozoïde mature contient différents types d'ARN (ARN codants mais aussi petits et longs ARN non codants ; Lalancette et al., 2008 ; Yan et al., 2008) Les ARN non codants jouent un rôle important dans la régulation épigénétique et sont potentiellement transmissibles à la descendance au moment de la fécondation. Ces observations ouvrent de nouvelles perspectives concernant la contribution paternelle dans le développement de l'embryon et les possibilités de transmission d'information à la descendance (Yamauchi et al., 2010 ; Jenkins et al., 2011 ; Yadav et al., 2013).

### 1.3.2 Epigénome de l'embryon et qualité embryonnaire

Suite à la fécondation, les deux pronucléi, maternel et paternel doivent subir une reprogrammation épigénétique

incluant une perte de toutes les marques spécifiques des gamètes et une apposition de nouvelles marques spécifiques de la totipotence qui orchestrent la mise en place du programme génique embryonnaire, puis celui de l'organogénèse (Mason et al., 2012). L'environnement de l'embryon dès ces premières étapes peut influencer le bon déroulement de cette reprogrammation épigénétique (environnement maternel ou environnement synthétique dans le cas de culture *in vitro*). Le développement embryonnaire débute en effet par une période d'inactivité du génome, l'embryon étant strictement dépendant du matériel maternel synthétisé et stocké au cours de la maturation ovocytaire (ARN et protéines). Une activité transcriptionnelle propre à l'embryon apparaît à l'EGA (Embryonic Genome Activation). L'embryon, en synthétisant ses propres transcrits, s'affranchit alors progressivement de sa dépendance exclusive vis-à-vis de l'information maternelle (Sirard, 2010). Cette phase n'a lieu qu'au stade 8-cellules chez le bovin et s'accompagne d'importantes modifications des marques épigénétiques présentes (Santos et al., 2002 ; Pichugin et al., 2010). Concernant l'organisation fonctionnelle du noyau embryonnaire et ses modifications au cours du développement, il apparaît que les régions très compactées de chromatine ('hétérochromatine péri/centromérique) subissent aussi une modification importante de leur topographie lors de la mise en route du génome embryonnaire (Martin et al., 2006). Plusieurs études montrent par ailleurs que la présence de marques épigénétiques particulières et la topographie nucléaire des régions péri-centromériques peuvent être altérées, notamment après clonage par transfert de noyaux (Bourchhis et al., 2001 ; Santos et al., 2003 ; Wee et al., 2006 ; Pichugin et al., 2010). Or les données récentes suggèrent qu'il est possible d'améliorer cette reprogrammation nucléaire et la qualité embryonnaire à l'aide d'inhibiteurs modifiant l'état épigénétique des embryons (LeBourhis et al., 2010 ; Monteiro et al., 2010 ; Oh et al., 2012).

L'ensemble de ces données suggèrent que les régulations épigénétiques joueraient un rôle important lors de l'EGA et pourraient influencer la qualité embryonnaire.

### 1.3.3 L'épigénome des tissus différenciés

L'organogénèse est un long processus basé sur la différenciation cellulaire.

#### 1.3.3.1. La glande mammaire.

Chez les animaux de rente, et en particulier chez la vache laitière, le développement et la mise en place de la fonctionnalité de la glande mammaire revêtent un intérêt majeur. La glande mammaire se développe en effet sur une très longue période qui commence dès la vie fœtale (*in utero*) et se poursuit au fil des divers cycles de gestation, de lactation et d'involution. Des marques épigénétiques se mettent alors en place et d'autres s'effacent, sur les gènes codants ou non codants qui sous-tendent l'expression des gènes dans les divers types cellulaires qui composent ce tissu (Rijnkels et al., 2010). Nos études rapportent une corrélation entre l'expression des gènes des protéines du lait et la méthylation de régions spécifiques au cours de la lactation uniquement dans le tissu mammaire (Montazer-Torbati et al., 2008). De plus une région en amont du gène de la caséine alpha S1 est relativement hypométhylée au cours du développement de la glande mammaire et la lactation en comparaison avec des tissus n'exprimant pas ce gène et se re-méthyle au cours de l'involution ou à la suite d'une mammite (Singh et al. 2010).

#### 1.3.3.2. L'endomètre.

Un autre exemple est donné par l'évolution des profils de méthylation en relation avec l'expression génique dans l'endomètre au cours du cycle oestrien et de la gestation chez la vache. Les changements fonctionnels de l'endomètre

sont principalement contrôlés par les hormones ovariennes, l'oestradiol 17 $\beta$  et la progestérone via leurs récepteurs respectifs (*Spencer et al., 2004*) et des changements dans les profils d'expression des gènes ont été décrits utilisant des approches de transcriptomique (*Bauersachs et al., 2007*; *Mansouri-Attia et al., 2009*). Ponsuksili et collaborateurs mentionnent de subtils changements de l'expression des gènes codant pour les enzymes de méthylation et du taux de méthylation global en fonction de la mise en place de la gestation après transfert embryonnaire (*Ponsuksili et al., 2012*). Comparant des échantillons d'endomètres de vaches fertiles et sub-fertiles à 17 jours de gestation ou de cycle, Walker et collaborateurs soulignent que le taux de méthylation de l'ADN est corrélé à l'expression des gènes impliqués dans différentes voies contrôlant les processus précoces du début de la gestation. En particulier, le gène codant IRF9, un facteur de transcription stimulé en réponse à la sécrétion d'Interféron $\gamma$  par l'embryon, présente une forte expression et une diminution importante de la méthylation de sa région promotrice (*Walker et al., 2013*). Ces travaux suggèrent que la susceptibilité endométriale dans la réussite de l'implantation suivie d'une gestation pourrait mettre en jeu des régulations épigénétiques facilitant un état d'ouverture et de fermeture de domaines de la chromatine, en adéquation avec la réponse au stimulus de présence d'un embryon.

## 2. EPIGENOME, MEMOIRE DE L'INFORMATION ENVIRONNEMENTALE

### 2.1. DEVENIR UNE REINE, UNE AFFAIRE DE METHYLATION CHEZ LES ABEILLES

Un très bel exemple de l'influence de la nutrition comme paramètre environnemental, sur les marques épigénétiques, est donné par la distinction entre ouvrière et reine induite dès le stade larvaire chez les abeilles. En effet, au cours du développement larvaire seul l'apport de gelée royale distingue le devenir d'une reine de celui d'une ouvrière. Kucharski et coll (2008) ont injecté au stade L1, des petits ARN interférants (siRNA) qui dégradent spécifiquement les ARNm de DNMT3 (codant une autre enzyme de méthylation), et bloquent la production de cette protéine impliquée dans la méthylation *de novo*. Ils obtiennent au stade adulte, 75% de reines démontrant que l'absence de méthylation globale a le même effet que l'apport de la gelée royale.

### 2.2. LA PUBERTE, UN LONG PROCESSUS DE MATURATION MELANT DETERMINANTS GENETIQUES ET ENVIRONNEMENTAUX

La puberté est une phase cruciale de développement des individus et le résultat final de l'interaction entre de forts déterminants génétiques et un très important nombre de régulateurs, qui inclue des facteurs endogènes et des facteurs environnementaux comme la nutrition. C'est donc un point final d'un long continuum de maturations basées sur des interactions dynamiques entre gènes et environnement durant toute la vie prénatale et postnatale de l'individu (*Tena-Sempere 2013*). Une récente étude mentionne de profonds changements dans les profils de méthylation au niveau de l'hypothalamus au cours de la puberté. Un blocage pharmacologique de la méthylation chez des rates juvéniles provoque un retard de puberté (*Lomniczi et al., 2013*). Parmi les gènes touchés par ces régulations épigénétiques, on peut citer le gène *Kiss1*, codant la kisspeptine, qui joue un rôle important dans la mise en place de la puberté. L'importance des processus épigénétiques dans l'intégration des données environnementales prend toute sa dimension dans la mise en place de la puberté. Il serait intéressant d'explorer ces paramètres en relation avec des apports énergétiques non seulement en période pré pubertaire mais aussi en période prénatale et post natale, en considérant la possibilité d'une programmation à long terme de la puberté.

## 2.3. ENVIRONNEMENT ET PRODUCTION LAITIERE

La production laitière est grandement affectée par l'environnement de l'animal. De même, la mise en place des marques épigénétiques spécifiquement mammaires est modifiée par les techniques d'élevage.

La monotraite (*Nguyen et al, 2012*; *Nguyen et al 2013*) ou l'inflammation lors des mammites (*Vanselow et al., 2006*; *Singh et al, 2012*) ont des effets à long terme sur le développement mammaire et la lactation, qui sont dus à des altérations des profils de méthylation de l'ADN autour de régions régulatrices de l'expression des gènes. La nutrition, et en particulier la sur-alimentation des génisses impacte de façon notable la production laitière (*Park et al 2005*). Il est possible que des régulations épigénétiques soient également impliquées dans ce processus (*Singh et al., 2012*).

Chez les vaches laitières, les premières phases de développement embryonnaire coïncident avec la lactation, période avec une forte demande énergétique associée à une mobilisation des réserves. Les paramètres de la production laitière de la descendance ont été analysés en fonction i) de la concomitance du développement embryonnaire avec la lactation, ii) du niveau de production laitière maternelle et iii) de la survenue de mammites (*Gonzalez-Recio et al., 2012*). Les vaches conçues en absence de lactation maternelle produisent plus de lait que leurs sœurs conçues pendant la lactation maternelle. Il est raisonnable de penser que la production laitière via un bilan énergétique négatif puisse avoir des conséquences de type épigénétique sur le développement embryonnaire conduisant à une prédisposition à diverses perturbations métaboliques révélées plus tardivement.

Ainsi, l'environnement au cours du développement mammaire, de la vie fœtale à la gestation puis pendant lactation, peut influencer la production de lait chez des animaux hautement sélectionnés et altérer les performances attendues. Comprendre les altérations épigénétiques expliquant au niveau moléculaire, comment les facteurs environnementaux influencent la lactation, peut fournir les clés pour l'obtention des performances attendues en fonction du potentiel génétique sélectionné.

Aujourd'hui, un accent est donné à la nutrigrénomique qui devrait contribuer à la fois à une meilleure efficacité alimentaire et à la production de produits de qualité. Il est important de définir les fenêtres temporelles pendant lesquelles des apports nutritionnels donnés peuvent influencer la production de l'individu (laitière ou de muscle) mais aussi le développement du veau tant au cours de la vie fœtale qu'en post natal et la santé des mères et de leur descendance.

## 3. PROGRAMMATION FCETALE ET TRANSMISSION MULTI-GENERATIONNELLE

### 3.1. IMPACT DE LA NUTRITION MATERNELLE

Au cours de la vie fœtale des informations provenant de l'environnement maternel (stress, exposition aux toxiques, alimentation...) sont filtrées par le placenta et peuvent être transmises sous forme de « mémoire épigénétique » qui modifie le devenir de l'individu. Cette mémoire de la vie *in utero*, aboutit à une prédisposition à certaines pathologies chez l'homme et peut influencer la réponse adaptative de la descendance à différents challenges

Chez la ratte, il a été démontré une relation entre restriction alimentaire ou stress émotionnel maternel, stress fœtal *in utero* et prédisposition aux pathologies cardiovasculaires chez l'adulte (*Gluckman et al 2008, Jansson et Powell 2007*). Une restriction protéique imposée à des femelles gestantes, induit une altération importante du métabolisme hépatique dans la descendance mâle avec une modification de la méthylation du promoteur du gène du récepteur aux glucocorticoïdes. Ces modifications sont maintenues à la deuxième génération (*Burdge et al., 2007*).

A l'opposé, des conditions nutritionnelles trop riches (régime « Cafétéria » riche en lipides) appliquées chez les mères peuvent induire des perturbations importantes du développement fœtal avec un retard de croissance et un petit poids de naissance et être associées à une prédisposition aux pathologies cardiovasculaires et métaboliques chez le jeune adulte accompagnées de modifications épigénétiques notables au niveau de certains promoteurs de gènes (Kappeler et al., 2010 ; Burdige et al., 2010).

La sous nutrition imposée au cours du premier trimestre de gestation chez la vache induit une diminution de la réserve ovarienne de la descendance, associée à des perturbations du système cardiovasculaire (élargissement du tronc aortique, augmentation de la pression sanguine) sans modification du poids de naissance et de la croissance post natale (Mossa et al., 2013). Clairement, le stress fœtal subit au cours du premier trimestre de gestation a des conséquences sur la santé postnatale. Une approche épigénétique des mécanismes moléculaires sous-jacents reste à mener.

### 3.2. IMPACT DE LA NUTRITION PATERNELLE.

Non seulement, il peut donc y avoir une transmission de l'information via la voie maternelle, mais il a aussi été démontré qu'un régime hypergras paternel avait aussi une incidence sur le métabolisme de la descendance (Ng et al., 2010). Dans la descendance, les femelles sont le plus affectées. Elles présentent une réduction notable des îlots pancréatiques □ développant une réponse inadéquate à une surdose de glucose et provoquant une dérégulation de l'insulinémie. Plus précisément, une hypométhylation d'un CpG situé dans le site de fixation de facteurs de transcription (T-cell factor1A et NF-X), en amont du gène *Il13ra2* en modifie l'expression et semble contribuer aux dérégulations métaboliques.

### 3.3. AUTRES FACTEURS IMPACTANT LA MEMOIRE EPIGENETIQUE.

D'autres facteurs environnementaux peuvent altérer les marques épigénétiques. Des travaux rapportent l'impact des xénobiotiques. Le diéthylstilbestrol (DES), un agoniste du récepteur oestrogénique, souvent prescrit chez la femme enceinte jusque dans les années 70, semble impliqué dans le développement de cancers vaginaux et dans une incidence plus élevée des anomalies du développement du tractus génital (Li et al., 2003) et de la glande mammaire laissant présager une incidence sur le développement plus fréquent des cancers du sein (Soto et al., 2013). Chez la souris, le DES, en traitement prénatal ou néonatal, induit une susceptibilité trans-générationnelle au développement de tumeurs du tractus génital chez la descendance (mâle et femelle) associée à une altération de la méthylation loci-spécifique (Sato et al., 2009). La vinclozoline, un composé anti androgénique et fongicide ou encore le méthoxychlor, composé oestrogénique et utilisé comme pesticide, présentent aussi des effets sur la fonction de reproduction, altèrent des marques épigénétiques (méthylation de l'ADN ou modifications post transcriptionnelles des histones) et modifient à long terme l'organisation chromatinienne et les profils d'expression des gènes (Guerrero-Bosagna et al., 2010 ; Stouder et al., 2011).

## 4. EFFETS TRANSGENERATIONNELS

Dans les exemples cités jusqu'à présent, les effets de l'environnement impactent les marques épigénétiques des tissus/organes de l'individu et de sa descendance via une exposition directe *in utero* ou via une exposition des gamètes. Il est aussi rapporté des effets trans-générationnels pour lesquels la descendance (F2) est porteuse de modifications épigénétiques sans avoir été exposé *in utero* aux variations environnementales.

### 4.1. REPONSE EPIGENETIQUE TRANS-GENERATIONNELLE AU REGIME ALIMENTAIRE

Chez le porc, Braunschweig et collaborateurs démontrent que la descendance F2 de mâles ayant été soumis à un régime riche en micronutriments méthylants (Folate, vitamine B12...) présente des paramètres de carcasse significativement différents en comparaison de ceux de la descendance F2 issue du groupe contrôle. Les analyses des profils des gènes hépatiques et de l'état de méthylation des promoteurs de ces gènes démontrent une héritabilité des altérations épigénétiques induites par le régime (Braunschweig et al., 2012). Ces travaux soulignent donc la possibilité de modifier certaines marques épigénétiques et de pérenniser ces modifications au travers des générations.

### 4.2. TRANSMISSION D'UNE ADAPTATION VIA LA VOIE PATERNELLE.

Dans un modèle de rats adultes porteurs de fibroses hépatiques, Zeybel et collaborateurs démontrent clairement des modifications épigénétiques au niveau d'un locus particulier (gène *PPAR gamma*) portées par l'ADN des spermatozoïdes et transmises à la descendance conférant alors une adaptation à cette pathologie (Zeybel et al., 2012). Dans ces exemples, il s'agit bien d'une transmission trans-générationnelle puisque l'altération épigénétique est portée par les gamètes et transmise à la descendance.

## CONCLUSION

Tous les caractères d'intérêt zootechnique, que ce soit la fertilité, la production laitière ou encore le développement musculaire, dérivent de processus de développement et de différenciation qui font intervenir des mécanismes épigénétiques fortement influencés par l'environnement. On considère que les caractères d'intérêt économique ont une héritabilité maximale de 20 à 30%. L'épigénétique offre la possibilité de comprendre, de mesurer et donc de contrôler la part « environnement », qui participe à la construction du phénotype. La description fine de l'épigénome de tissus en lien avec ces caractères pourrait donc fournir des variables explicatives supplémentaires à incorporer aux modèles de prédiction du phénotype (Gonzalez-Recio et al., 2012).

Les travaux menés dans nos unités (Biologie du Développement et Reproduction (BDR) et de Génomique de la Physiologie de la Lactation (GPL)) ont permis de développer des outils pertinents et performants chez le bovin visant d'une part l'analyse pan génomique et séquences spécifiques des marques épigénétiques comme la méthylation de l'ADN (Communications 3R d'Hélène Kiefer, d'Eve Devinoy) et d'autre part une description de l'architecture chromatinienne en relation avec l'état transcriptionnel des noyaux cellulaires chez l'embryon précoce (communication 3R de Laurence Gall) Des études intégrant des données haut débit de phénotypage, de génotypage et d'épigénotypage sont donc maintenant accessibles (Kiefer et al., 2013). L'objectif sera alors de déterminer les signatures épigénétiques liées à divers facteurs environnementaux et pouvant être prises en compte dans un schéma de sélection afin d'obtenir des animaux au phénotype le plus robuste en fonction du système d'élevage et exprimant pleinement leur potentiel génétique.

Aston K.I., Punj V., Liu L., Carrell D.T. 2012 *Fertil Steril.*, 97(2):285-92

Bauersachs S., Mitko K., Blum H., Wolf E. 2007 *J Dairy Sci.*, 90(9):4420-3.

Boissonnas C.C., Abdalaoui H.E., Haelewyn V., Fauque P., Dupont J.M., Gut I., Vaiman D., Jouannet P., Tost J., Jammes H. 2012 *Eur J Hum Genet.*, 18(1):73-80

Boissonnas C.C., Jouannet P., Jammes H. 2013 *Fertil Steril.*, 99(3):624-631.

- Bourc'his D., Le Bourhis D., Patin D., Niveleau A., Comizzoli P., Renard J.P., Viegas-Péquignot E. 2001 *Curr Biol.*, 11(19):1542-1546.
- Bourc'his D, Proudhon C. 2008 *Mol Cell Endocrinol.*, 282(1-2):87-94
- Braunschweig M.H., Van Laere A.S., Buys N., Andersson L., Andersson G., 2004 *Genomics*, 84 :1021-1029
- Braunschweig M., Jagannathan V., Gutzwiller A., Bee G. 2012 *PLoS One*, 7(2):e30583.
- Burdge G.C., Slater-Jefferies J., Torrens C., Phillips E.S., Hanson M.A., Lillycrop K.A. 2007. *Br J Nutr.*, 97(3): 435-439
- Burdge G.C., Lillycrop K.A.. 2010. *Annu Rev Nutr.*, 30:315-339.
- Carvalho J.O., Michalczewen-Lacerda V.A., Sartori R., Rodrigues F.C., Bravim O., Franco M.M., Dode M.A. 2012 *Mol Reprod Dev.*, 79(2):77-84
- Carrell D.T., Hammoud S.S. 2010 *Mol Hum Reprod.*,16(1):37-47
- Cockett N.E., Jackson S.P., Shay T.L., Nielsen D., Moore S.S., Steele M.R., Barendse W., Green R.D., Georges M., 1994. *Proc. Natl. Acad. Sci. U S A.*, 91(8):3019-3023
- Cooper R.S. 2003 *Ann Intern Med.*, 139(5 Pt 2):437-440.
- Diederich M., Hansmann T., Heinzmann J., Barg-Kues B., Herrmann D., Aldag P., Baulain U., Reinhard R., Kues W., Weissgerber C., Haaf T., Niemann H. 2012. *Reproduction*, 144(3):319-330.
- Gluckman P.D., Hanson M.A., Cooper C., Thornburg K.L., 2008. *N. Engl. J. Med.*, 359:61-73
- Guerrero-Bosagna C., Settles M., Lucker B., Skinner M.K. 2010 *PLoS One*. Sep 30;5(9).
- González-Recio O., Ugarte E., Bach A. 2012 *PLoS One.*, 7(12):e51816
- Holliday R., Pugh J. E., 1975. *Science*, 187:226-232.
- Houshdaran S., Cortessis V.K., Siegmund K., Yang A., Laird P.W., Sokol R.Z. 2007 *PLoS One.*, 2(12):e1289.
- Jansson T., Powell T.L. 2007 *Clin Sci (Lond)*, 113(1):1-13.
- Jenkins T.G., Carrell D.T. 2011 *Asian J Androl.*, 13(1):76-80
- Kappeler L., Meaney M.J. 2010. *Bioessays.*, 32(9):818-827
- Kiefer H., Jouneau L., Champion E., Martin-Magniette M.L., Balzergue S., Chavatte-Palmer P., Richard C., Le Bourhis D., Renard J-P, Jammes H., 2013. *EAAP Annual Meeting*, Nantes, 26-30 août.
- Kouzarides T., 2007. *Cell*, 131(4): 822-830.
- Kress C., Kieu K., Droineau S., Galio L., Devinoy E. 2011 *Chromosome Res.*, 19: 979-997.
- Kucharski R., Maleszka J., Foret S., Maleszka R., 2008. *Science*, 319:1827-1830
- Lalancette C., Miller D., Li Y., Krawetz S.A. 2008 *J Cell Biochem.* , 104(5):1570-1579
- Le Bourhis D., Beaujean N., Ruffini S., Vignon X., Gall L. 2010 *Cell Reprogram.*, 12(6):729-738
- Li S., Hursting S.D., Davis B.J., McLachlan J.A., Barrett J.C. 2003 *Ann N Y Acad Sci.*, 983:161-169.
- Lomniczi A., Loche A., Castellano J.M., Ronnekleiv O.K., Bosch M., Kaidar G., Knoll J.G., Wright H., Pfeifer G.P., Ojeda S.R. 2013 *Nat Neurosci.*, 16(3):281-289
- Mansouri-Attia N., Aubert J., Renaud P., Giraud-Delville C., Taghouti G., Galio L., Everts R.E., Degrelle S., Richard C., Hue I., Yang X., Tian X.C., Lewin H.A., Renard J.P., Sandra O. 2009 *Physiol Genomics*. 39(1):14-27
- Marques C.J., Costa P., Vaz B., Carvalho F., Fernandes S., Barros A., Sousa M. 2008 *Mol Hum Reprod.*, 14(2):67-74.
- Martin C, Brochard V, Migné C, Zink D, Debey P, Beaujean N. 2006 *Mol Reprod Dev.*, 73(9):1102-1111.
- Mason K, Liu Z, Aguirre-Lavin T, Beaujean N. 2012 *Anim Reprod Sci.*, 134(1-2):45-55
- Montazer-Torbati MB, Hue-Beauvais C, Droineau S, Ballester M, Coant N, Aujean E, Petitbarat M, Rijnkels M, Devinoy E. 2008 *Exp Cell Res.*, 314(5):975-987.
- Monteiro F.M., Oliveira C.S., Oliveira L.Z., Saraiva N.Z., Mercadante M.E., Lopes F.L., Arnold D.R., Garcia J.M. 2010 *Vet Med Int.*, 694817
- Mossa F., Carter F., Walsh S.W., Kenny D.A., Smith G.W., Ireland J.L., Hildebrandt T.B., Lonergan P., Ireland J.J., Evans A.C. 2013 *Biol Reprod.*, 88(4):92
- Ng S.F., Lin R.C., Laybutt D.R., Barres R., Owens J.A., Morris M.J. 2010. *Nature*, 467(7318):963-966
- Nguyen M., Boutinaud M., Petridou B., Chat S., Bouet S, Laloe, D., Jaffrezic F., Gabory A., Kress C., Galio L., Charlier M., Pannetier M., Klopp C., Jammes H., Devinoy E. 2013 *Rencontres Recherche Ruminant, communication orale 048.*
- Nguyen M., Bouet S., Boutinaud M., Dessauge F., Charlier M., Gabory A., Galio L., Jammes H., Kress C., Devinoy E. 2012. 63rd Annual Meeting EAAP 2012, Bratislava (Slovaquie), 27-31 août.
- Nguyen M., Boutinaud M., Charlier M., Gabory A., Kress C., Chat S., Bouet S., Jaffrezic F., Klopp C., Petridou B., Jammes H., Devinoy E. 2012 *Plant and Animal Genome XXI Conference*, San Diego (USA), 12-16 janvier.
- Oh H.J., Lee T.H., Lee J.H., Lee B.C.. 2012 *J Vet Med Sci.*, 74(11):1409-1415
- Park C.S. 2005 *FASEB J.*, 19(12):1586-1591.
- Pacheco S.E., Houseman E.A., Christensen B.C., Marsit C.J., Kelsey K.T., Sigman M., Boekelheide K. 2011 *PLoS One.*, 6(6):e20280.
- Pichugin A., Le Bourhis D., Adenot P., Lehmann G., Audouard C., Renard J.P., Vignon X., Beaujean N. 2010 *Reproduction*, 139(1):129-137
- Ponsuksili S, Murani E, Schwerin M, Schellander K, Tesfaye D, Wimmers K. 2012 *PLoS One.*, 7(8):e42402.
- Ramos R.G., Olden K. 2008 *Int J Environ Res Public Health*, 5(1):4-11.
- Rijnkels M., Kabotyanski, E., Montazer-Torbati M. B., Beauvais C. H., Vassetzky Y., Rosen J. M., Devinoy E. 2010 *J. Mammary Gland Biol. Neoplasia* 15: 85-100
- Santos F., Hendrich B., Reik W., Dean W. 2002 *Dev Biol.*, 241(1):172-182
- Santos F., Zakhartchenko V., Stojkovic M., Peters A., Jenuwein T., Wolf E., Reik W., Dean W. 2003 *Curr Biol.*, 13(13):1116-1121.
- Sato K., Fukata H., Kogo Y., Ohgane J., Shiota K., Mori C. 2009. *Endocr J.*, 56(1):131-139
- Schneider R., Grosschedl R. 2007 *Genes Dev.*, 21(23):3027-3043
- Singh K., Erdman R.A., Swanson K.M., Molenaar A.J., Maqbool N.J., Wheeler T.T., Arias J.A., Quinn-Walsh E.C., and Stelwagen K. 2010 *J. Mammary Gland Biol. Neoplasia*, 15(1):101-112
- Singh, K., Molenaar, A. J., Swanson, K. M., Gudex, B., Arias, J. A., Erdman, R. A., Stelwagen, K. 2012 *Animal*, 6:375-381
- Sirard M.A. 2010 *Soc Reprod Fertil Suppl.*, 67:145-58
- Soejima H., Higashimoto K. 2013 *J Hum Genet.*, 58(7):402-409.
- Soto A. M., Briskin C. , Schaeberle C. , Sonnenschein C. 2013 *J Mammary Gland Biol Neoplasia.*, 18(2):199-208
- Spencer TE, Bazer FW. 2004 *J Anim Sci.*, 82 E-Suppl:E4-13.
- Stouder C., Paoloni-Giacobino A. 2011 *Reproduction.*, 141(2):207-216
- Tena-Sempere M. 2013 *Curr Top Dev Biol.*, 105:299-329
- Vanselow J., Yang W., Herrmann J., Zerbe H., Schuberth H. J., Petzl W., Tomek W., Seyfert H. M. 2006 *J. Mol. Endocrinol.* 37 : 463-477
- Vuocolo T., Byrne K., White J., McWilliam S., Reverter A., Cockett N.E., Tellam R.L. 2007 *Physiol Genomics*, 28(3):253-272.
- Walker C.G., Littlejohn M.D., Meier S., Roche J.R., Mitchell M.D. 2013 *Physiol Genomics*. 45(7):276-286.

**Wee G., Koo D.B., Song B.S., Kim J.S., Kang M.J., Moon S.J., Kang Y.K., Lee K.K., Han Y.M. 2006** J Biol Chem., 281(9):6048-6057  
**Yadav R.P., Kotaja N. 2013** Mol Cell Endocrinol.,S0303-7207(13)00160-163  
**Yamauchi A., Telschow A., Kobayashi Y. 2010** J Theor Biol., 266(1):79-87  
**Yan W., Morozumi K., Zhang J., Ro S., Park C., Yanagimachi R. 2008** Biol Reprod. 78(5):896-902  
**Zamudio N.M., Chong S., O'Bryan M.K. 2008** Reproduction, 136(2):131-146  
**Zeybel M., Hardy T., Wong Y.K., Mathers J.C., Fox C.R., Gackowska A., Oakley F., Burt A.D., Wilson C.L., Anstee Q.M., Barter M.J., Masson S., Elsharkawy A.M., Mann D.A., Mann J. 2012** Nat Med., 18(9):1369-1377

