



**HAL**  
open science

## Etude métabolomique par RMN de l'exposition chronique à faible dose de composés génotoxiques

Cécile Canlet, Marie Tremblay-Franco, Roselyne Gautier, Yannick Brunato, Patricia Kambia-Kalombo, Nathalie Poupin, Gladys Mirey

► **To cite this version:**

Cécile Canlet, Marie Tremblay-Franco, Roselyne Gautier, Yannick Brunato, Patricia Kambia-Kalombo, et al.. Etude métabolomique par RMN de l'exposition chronique à faible dose de composés génotoxiques. 15èmes journées scientifiques du RFMF, May 2023, Perpignan, France. hal-04332320

**HAL Id: hal-04332320**

**<https://hal.science/hal-04332320>**

Submitted on 8 Dec 2023

**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.

Public Domain

# Etude métabolomique par RMN de l'exposition chronique à faible dose de composés génotoxiques

Cécile Canlet<sup>1,2</sup>, Marie Tremblay-Franco<sup>1,2</sup>, Roselyne Gautier<sup>1,2</sup>, Yannick Brunato<sup>1,2</sup>, Patricia Kambia-Kalombo<sup>1,2</sup>, Nathalie Poupin<sup>1</sup>, Gladys Mirey<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Toxalim (Research Centre in Food Toxicology), Toulouse University, INRAE UMR 1331, ENVT, INP-Purpan, UPS, Toulouse, France

<sup>2</sup>Metatoul-AXIOM Platform, National Infrastructure for Metabolomics and Fluxomics: MetaboHUB, Toxalim, INRAE, F-31027, Toulouse, France

## Contexte

- ❖ Agents génotoxiques doivent être identifiés car présentent un risque pour la santé humaine/animale et les biosystèmes
- ❖ Test du micronoyau est reconnu mais ne permet pas de différencier les mécanismes d'action clastogènes
- ❖ Techniques omiques pourraient apporter des informations complémentaires afin de mieux caractériser les mécanismes de toxicité de ces substances
- ❖ Objectif : Caractériser les métabolites associés à l'exposition chronique des cellules hépatiques humaines à des composés génotoxiques et classifier ces composés toxiques en fonction des voies métaboliques perturbées

## Méthodes

Exposition journalière à 12 composés génotoxiques pendant 5 jours

Analyse RMN du proton des extraits cellulaires

Pré-traitement des spectres RMN

Analyses statistiques multivariées

Cellules hépatiques humaines HepaRP  
1 million cellules par puits  
N=16

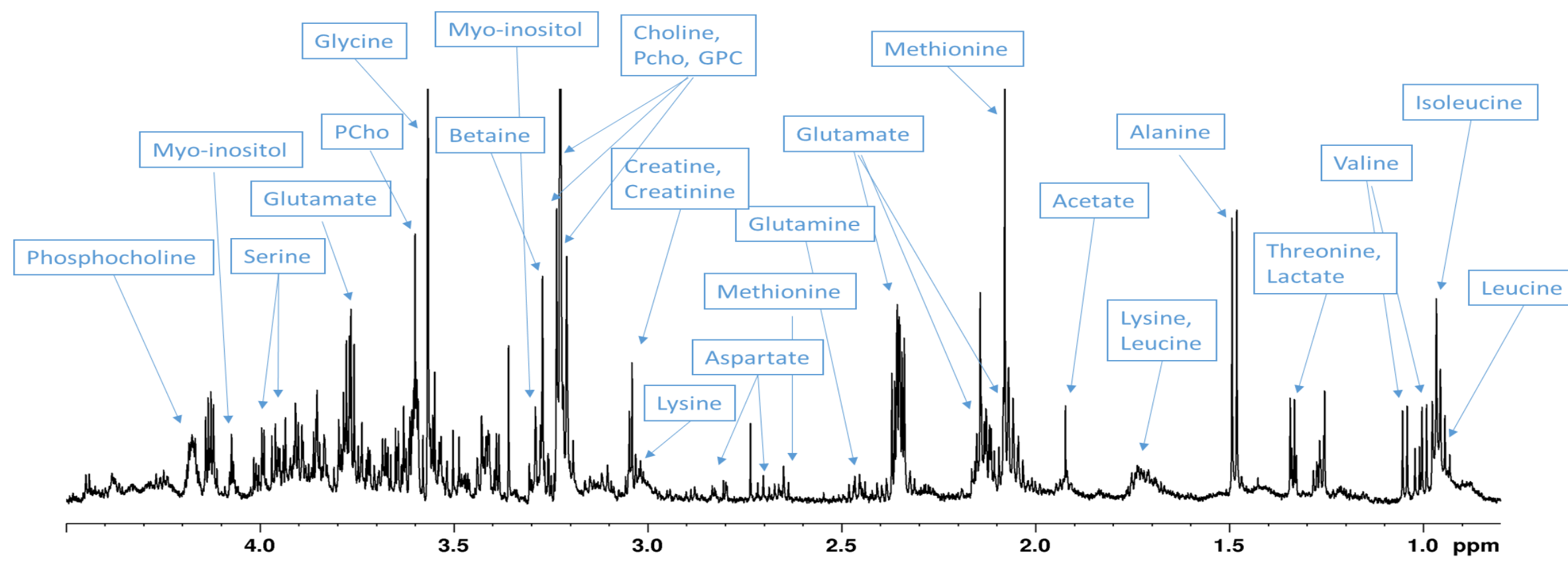
Spectromètre RMN 600 MHz Bruker Avance III HD Cryosonde

Découpage des spectres en buckets de largeur 0,01 ppm et intégration des buckets

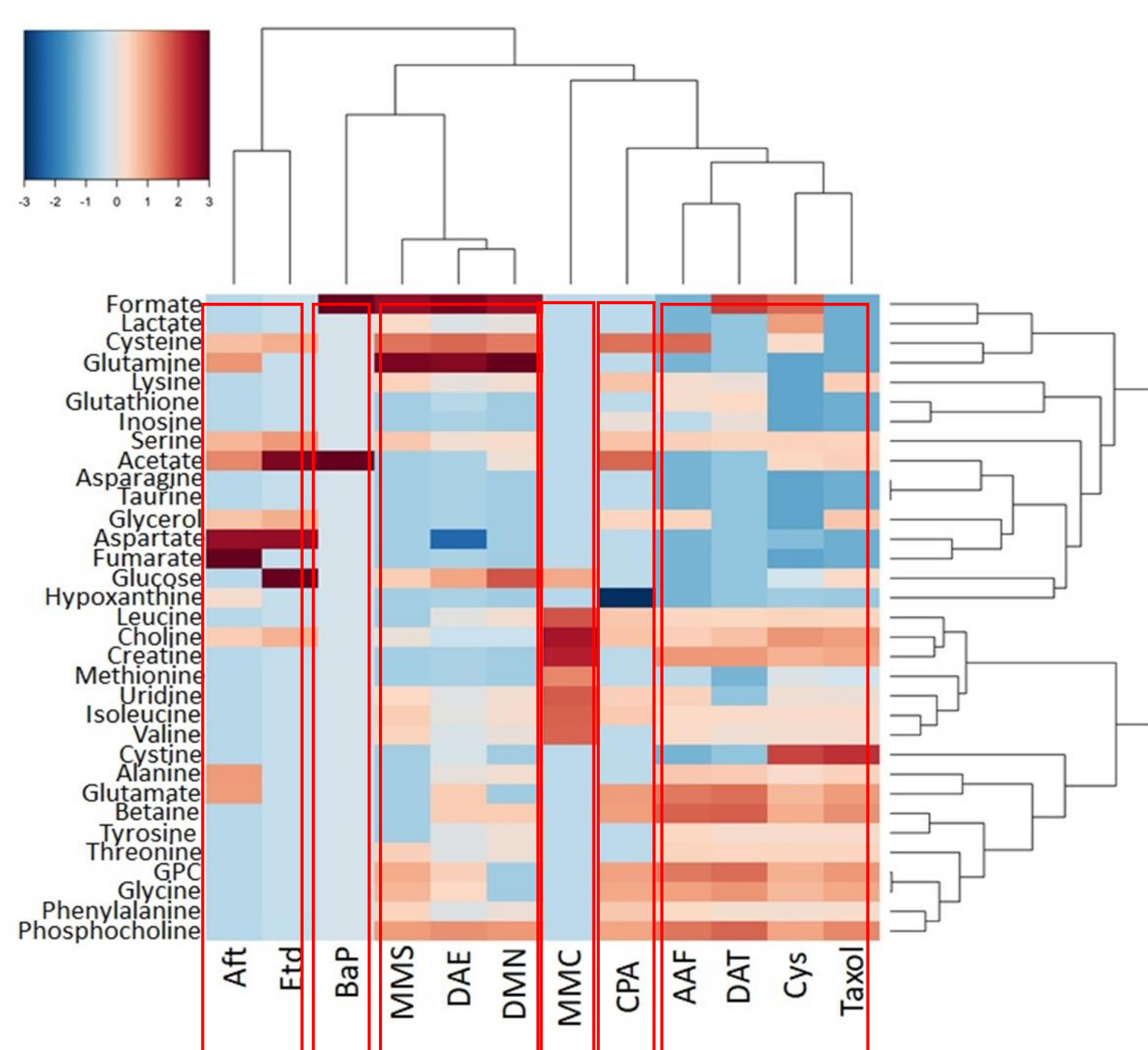
Analyse OPLS-DA  
Test univarié des variables avec VIP>1

Composés	Dose journalière (µM/jour)
Méthanesulfonate de méthyle (MMS)	0,1
Cyclophosphamide (CPA)	0,1
Benzo-a-Pyrene (BaP)	0,1
2,4-diaminotoluène (DAT)	0,1
2-Acétaminofluorene (AAF)	0,1
Aflatoxin B1 (AFT)	0,1
Dimethylnitrosamine (DMN)	0,1
Cisplatine (Cys)	0,1
Mitomycin C (MMC)	0,001
Etoposide (Etp)	0,1
Taxol	0,001
Diethanolamine (DAE)	0,1

Spectre RMN 600 MHz du proton d'un extrait cellulaire



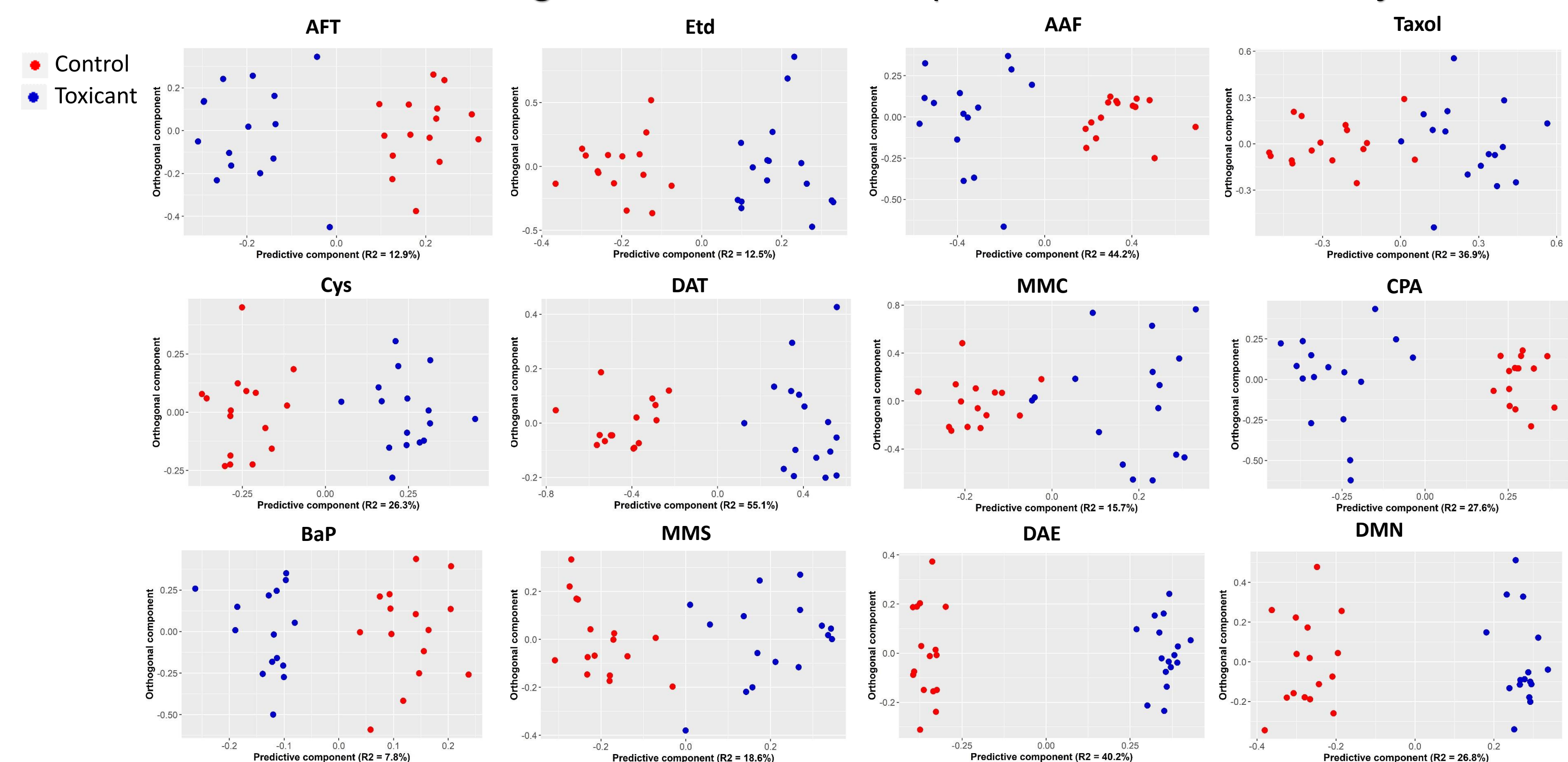
Analyse Heat Map des données de métabolomique



**Analyse Heat Map des données de métabolomique.** Les lignes correspondent aux métabolites et les colonnes aux génotoxiques. Les métabolites dont la concentration diminue sont coloriés en bleu alors que les métabolites dont la concentration augmente sont coloriés en rouge.

## Résultats

Analyses Statistiques multivariées  
Orthogonal-Partial Least Square-Discriminant Analysis



**Score plots PLS-DA des spectres RMN des extraits de cellules HepaRP exposées aux 12 composés toxiques.** Chaque cercle représente une observation projetée sur la première composante latente prédictive (axe horizontal) et la première composante orthogonale (axe vertical). Les cercles rouges correspondent aux échantillons témoins et les cercles bleus aux échantillons exposés.

- ❖ Les analyses OPLS-DA sur les données RMN ont permis de discriminer les cellules exposées des cellules témoins pour chaque toxique (modèles valides et robustes,  $Q^2$  variant de 0,505 (MMS) et 0,971 (DAE))
- ❖ Le nombre de métabolites discriminant les cellules exposées des cellules témoins dépend du toxique, variant de 3 métabolites pour le BaP à 26 pour Cisplatine
- ❖ L'analyse Heat-Map réalisée sur les fold-change de tous les métabolites identifiés permet de mettre en évidence des similarités dans les variations de concentrations de métabolites, par exemple pour AAF, DAT, Cys et Taxol une augmentation d'alanine, glutamate, betaine, tyrosine, threonine, GPC, glycine, phenylalanine et phosphocholine est observée

## Conclusions

- ❖ Les profils de modulation métabolique identifiés par RMN permettent de classer les composés toxiques en fonction de leurs effets métaboliques, par exemple AAF, DAT, Cys et Taxol ont des variations de concentrations de métabolites similaires
- ❖ Ces premiers résultats montrent que les voies métaboliques perturbées sont spécifiques du composé toxique, suggérant des mécanismes d'action différents pour certains composés toxiques

## Acknowledgments

Projet ANR MetaboHUB (ANR-11-INBS-0010)  
Projet ANR Genoshift (ANR-20-CE34-0016)

## Contacts

Cecile.canlet@inrae.fr  
Marie.tremblay-franco@inrae.fr