

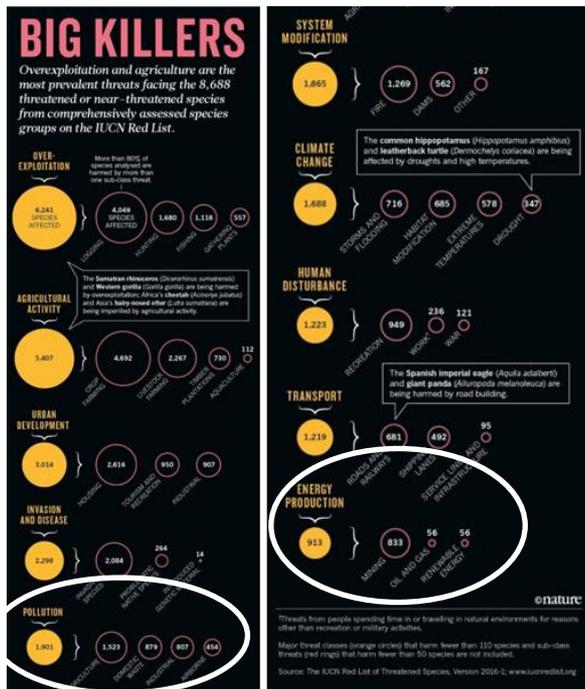
DECRYPTER LES MECANISMES DE REPROTOXICITE RADIO-INDUITE CHEZ L'AMPHIPODE *GAMMARUS FOSSARUM*

Sandrine FRELON, Rémi RECOURA-MASSAQUANT, Marie-Laure DELIGNETTE-MULLER, Jean-Charles GAILLARD, Nicolas DUBOURG, Jean-Marc BONZOM, Olivier GEFFARD, Arnaud CHAUMOT, Jean ARMENGAUD, Davide DEGLI-ESPOSTI



CONTEXTE DE L'ETUDE : EVALUATION DU RISQUE RADIO-ECOLOGIQUE

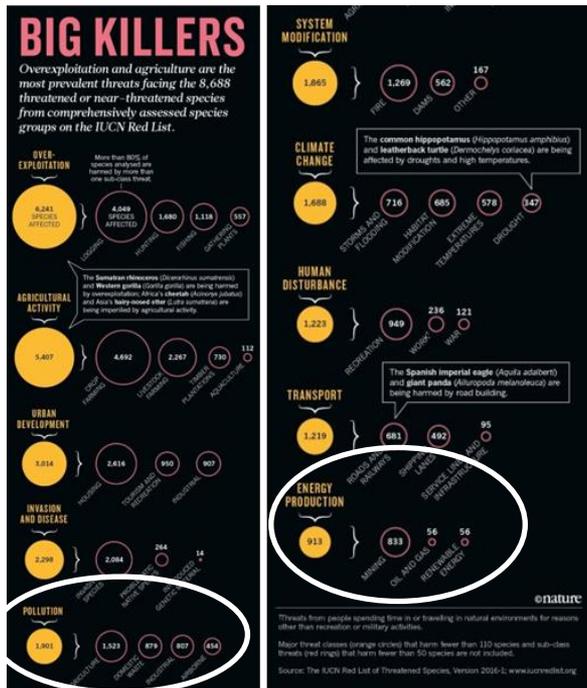
[IMPACT DE LA RADIOCONTAMINATION SUR LES ESPÈCES ENVIRONNEMENTALES



Maxwell et al., Nature 2016

CONTEXTE DE L'ETUDE : EVALUATION DU RISQUE RADIO-ECOLOGIQUE

[IMPACT DE LA RADIOCONTAMINATION SUR LES ESPÈCES ENVIRONNEMENTALES



Maxwell et al., Nature 2016



Chernobyl, 1986



Fukushima, 2011



REJETS ACCIDENTELS

¹ Garnier Laplace 2013 ² UNSCEAR, 2008 ³ ICRP 2007 ⁴ Dallas, 2012 ⁵ Fuller et al., 2015

CONTEXTE DE L'ETUDE : EVALUATION DU RISQUE RADIO-ECOLOGIQUE

[IMPACT DE LA RADIOCONTAMINATION SUR LES ESPÈCES ENVIRONNEMENTALES



Maxwell et al., Nature 2016



Chernobyl, 1986



Fukushima, 2011



REJETS ACCIDENTELS

Exposition chronique continue des espèces

ERE -> Définition de valeurs seuils¹⁻³ basées sur l'analyse des relations expositions <-> effets

Données manquantes sur différents taxons^{4,5}

MoA par rapport aux chimiques?

REPONSE BIOLOGIQUE DE *GAMMARUS FOSSARUM* APRES IRRADIATION EXTERNE 1/2

[CARACTERISATION DE CET AMPHIPODE, SENSIBLE AUX CHIMIQUES & BIOINDICATEUR DE LA QUALITÉ DE L'EAU

■ Omniprésent dans les écosystèmes aquatiques lotiques et oxygénés

■ Particulièrement bien décrit en écotoxicologie¹⁻⁵

REPONSE BIOLOGIQUE DE *GAMMARUS FOSSARUM* APRES IRRADIATION EXTERNE 1/2

[CARACTERISATION DE CET AMPHIPODE, SENSIBLE AUX CHIMIQUES & BIOINDICATEUR DE LA QUALITÉ DE L'EAU

- Omniprésent dans les écosystèmes aquatiques lotiques et oxygénés
- Particulièrement bien décrit en écotoxicologie¹⁻⁵

■ Cartographie des effets sur la base des paramètres mesurés en écotoxicologie ; irradiation des mâles ou des femelles : survie, alimentation (mâles, femelles), mue, fécondité, fertilité (pendant et post-irradiation).



REPONSE BIOLOGIQUE DE *GAMMARUS FOSSARUM* APRES IRRADIATION EXTERNE 2/2

[PROFIL ECOTOXIQUE DE L'IRRADIATION γ EXTERNE CHEZ *G. FOSSARUM*

Frelon et al. (Acceptée) Env. Toxicol. Chem.

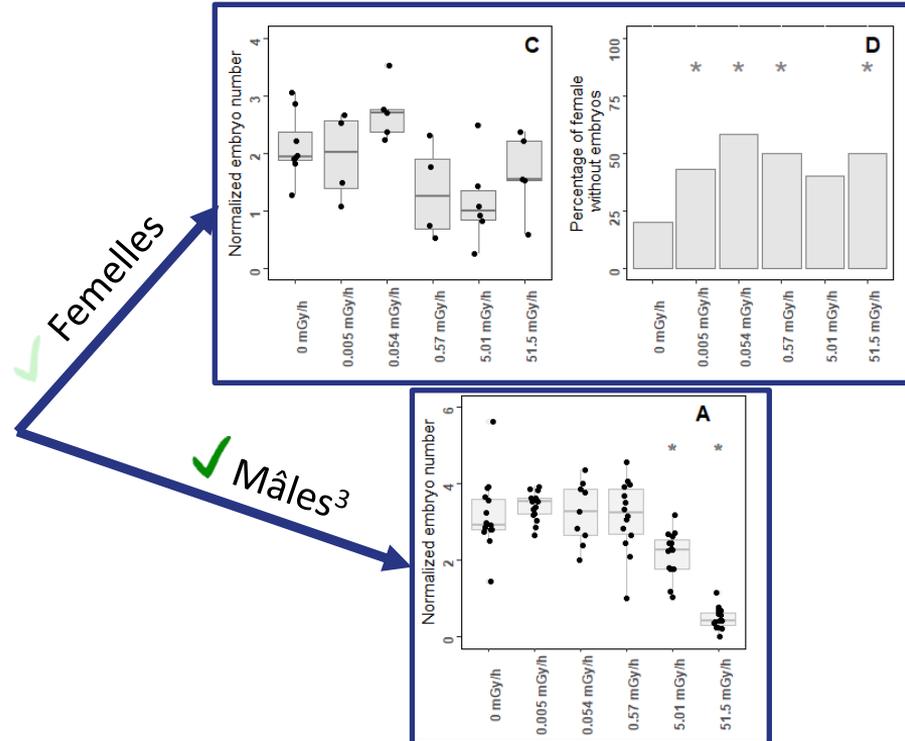
- ✗ | Survie
- ✗ | Alimentation
- ✗ | Nombre d'embryons (cycle n-1)¹
- ✗ | Nombre d'ovocytes produits (cycle n)

REPONSE BIOLOGIQUE DE *GAMMARUS FOSSARUM* APRES IRRADIATION EXTERNE 2/2

[PROFIL ECOTOXIQUE DE L'IRRADIATION γ EXTERNE CHEZ *G. FOSSARUM*

Frelon et al. (Acceptée) Env. Toxicol. Chem.

- ✗ | Survie
- ✗ | Alimentation
- ✗ | Nombre d'embryons (cycle n-1)¹
- ✗ | Nombre d'ovocytes produits (cycle n)
- | Capacités de reproduction post-irradiation



¹ Fuller et al. 2018 ² Dufourcq-Sekatcheff et al 2023 ³ Fuller et al 2019

REPONSE BIOLOGIQUE DE *GAMMARUS FOSSARUM* APRES IRRADIATION EXTERNE 2/2

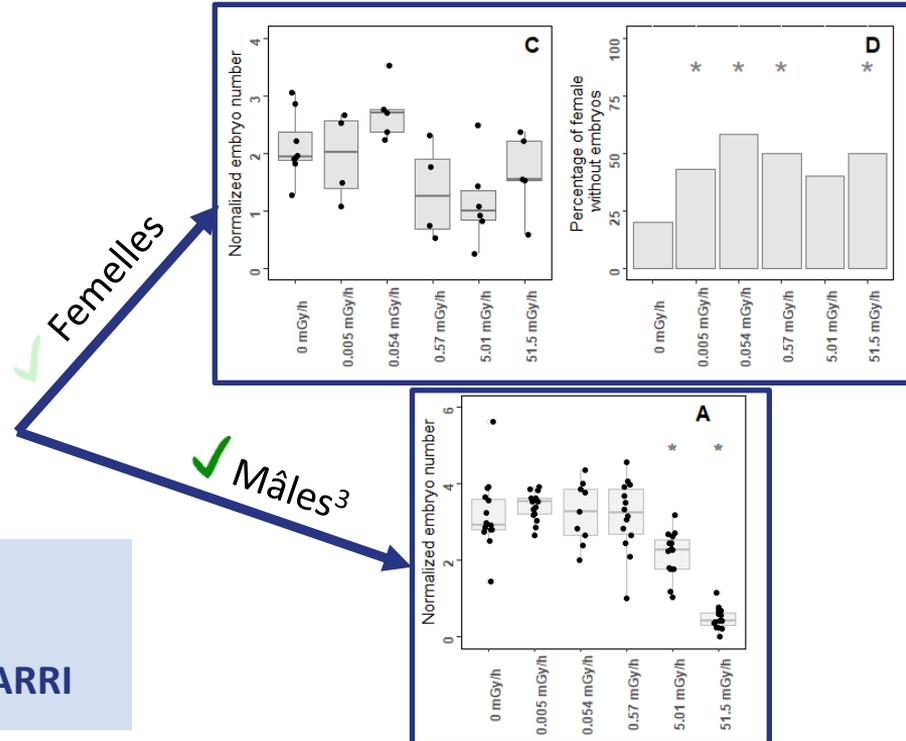
[PROFIL ECOTOXIQUE DE L'IRRADIATION γ EXTERNE CHEZ *G. FOSSARUM*

Frelon et al. (Acceptée) Env. Toxicol. Chem.

- ✗ | Survie
- ✗ | Alimentation
- ✗ | Nombre d'embryons (cycle n-1)¹
- ✗ | Nombre d'ovocytes produits (cycle n)
- | Capacités de reproduction post-irradiation

| Reprotoxicité du rayonnement

| Voie(s) d'action toxique? => Projet GAMMARRI

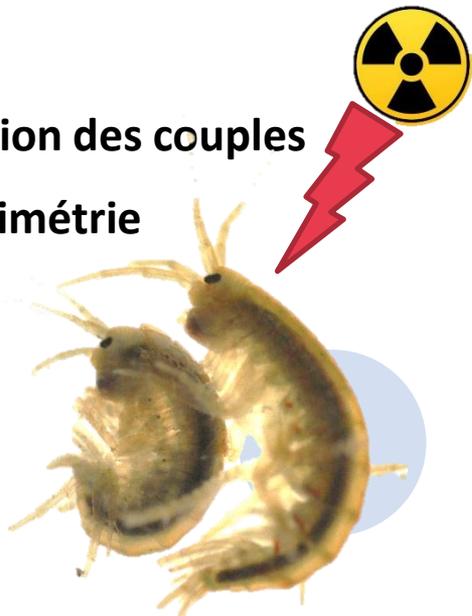


¹ Fuller et al. 2018 ² Dufourcq-Sekatcheff et al 2023 ³ Fuller et al 2019

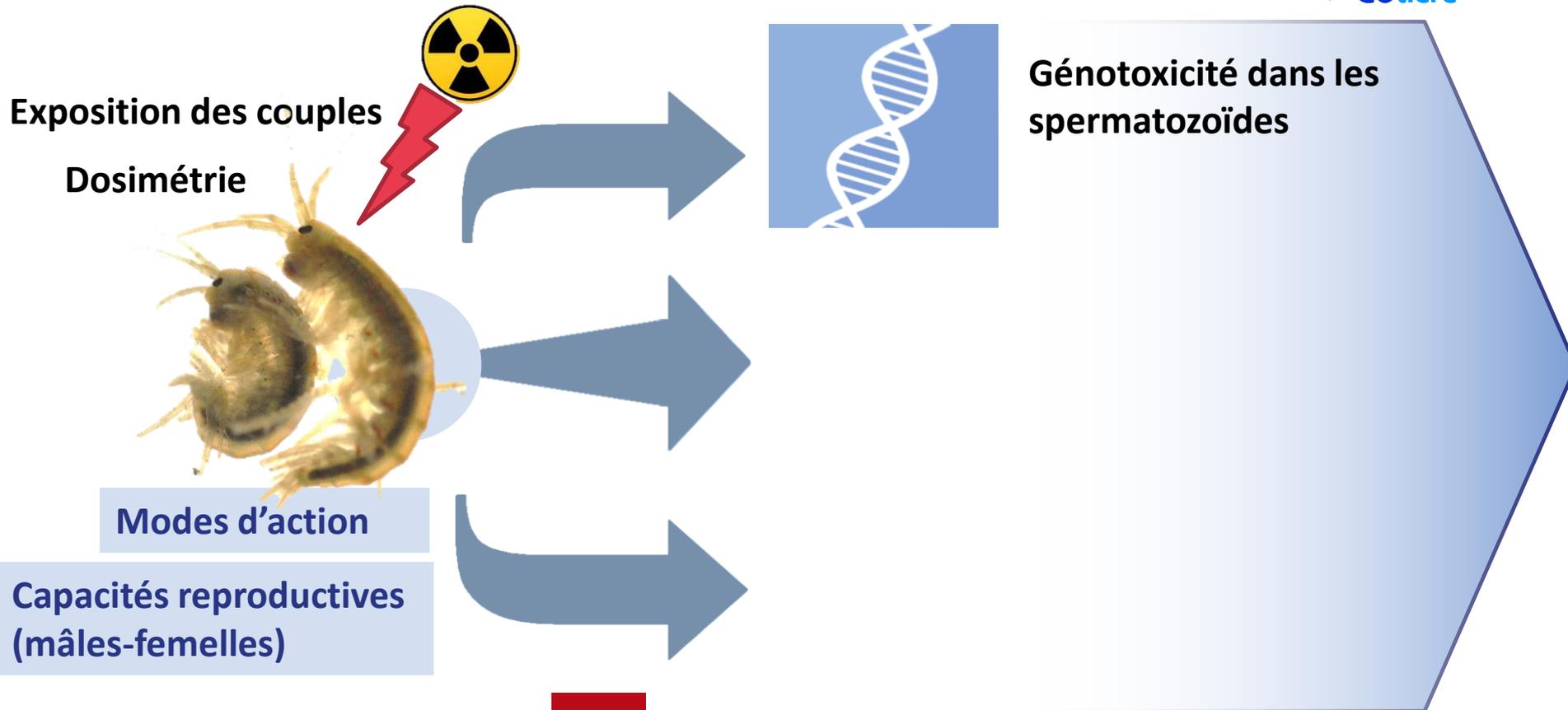
PROJET GAMMARRI - OBJECTIFS & METHODOLOGIE

Exposition des couples

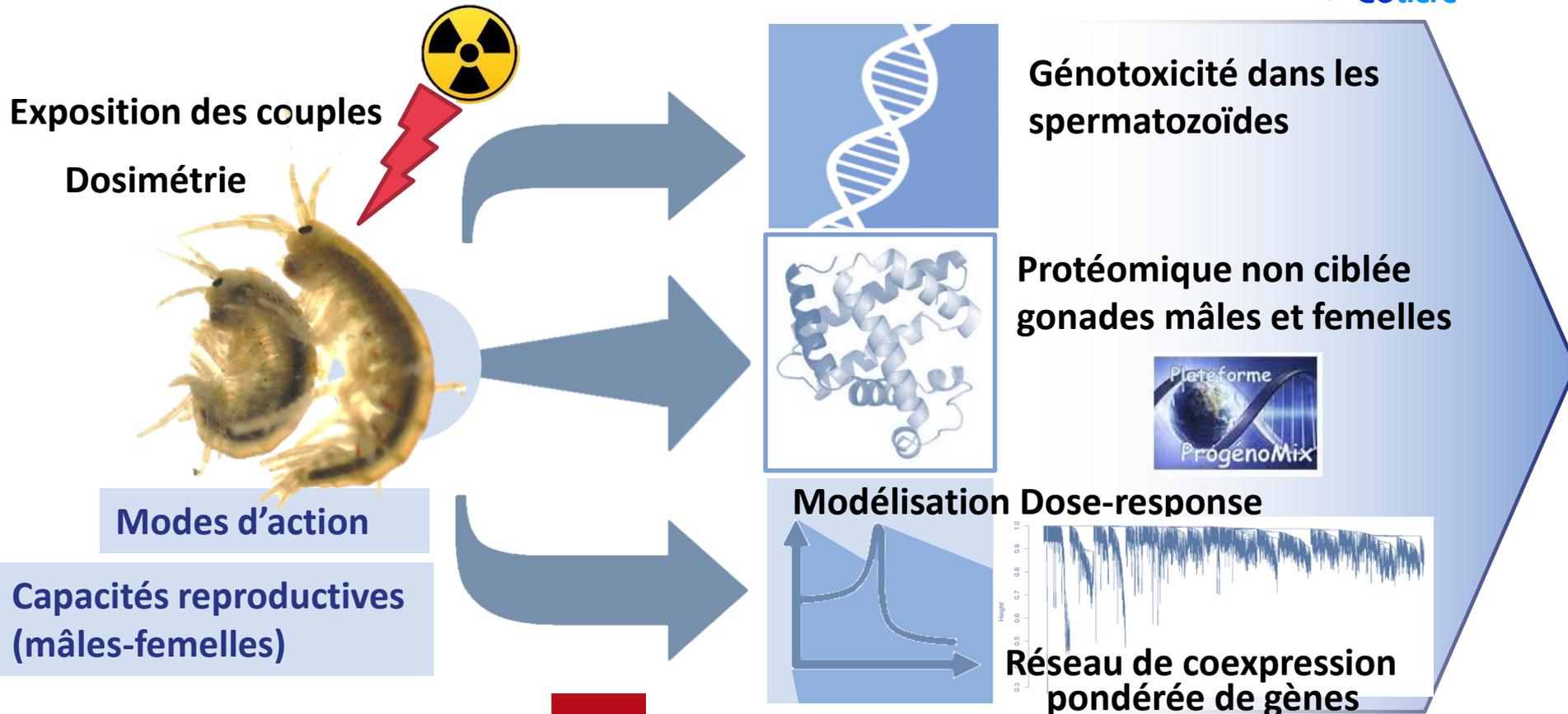
Dosimétrie



PROJET GAMMARRI - OBJECTIFS & METHODOLOGIE



PROJET GAMMARRI - OBJECTIFS & METHODOLOGIE





[CAPACITES REPRODUCTIVES MALES : EMBRYONS FEMELLES & GENOTOXICITE GAMETES MALES¹

Confirmation de l'altération des capacités reproductives des mâles



[CAPACITES REPRODUCTIVES MALES : EMBRYONS FEMELLES & GENOTOXICITE GAMETES MALES¹

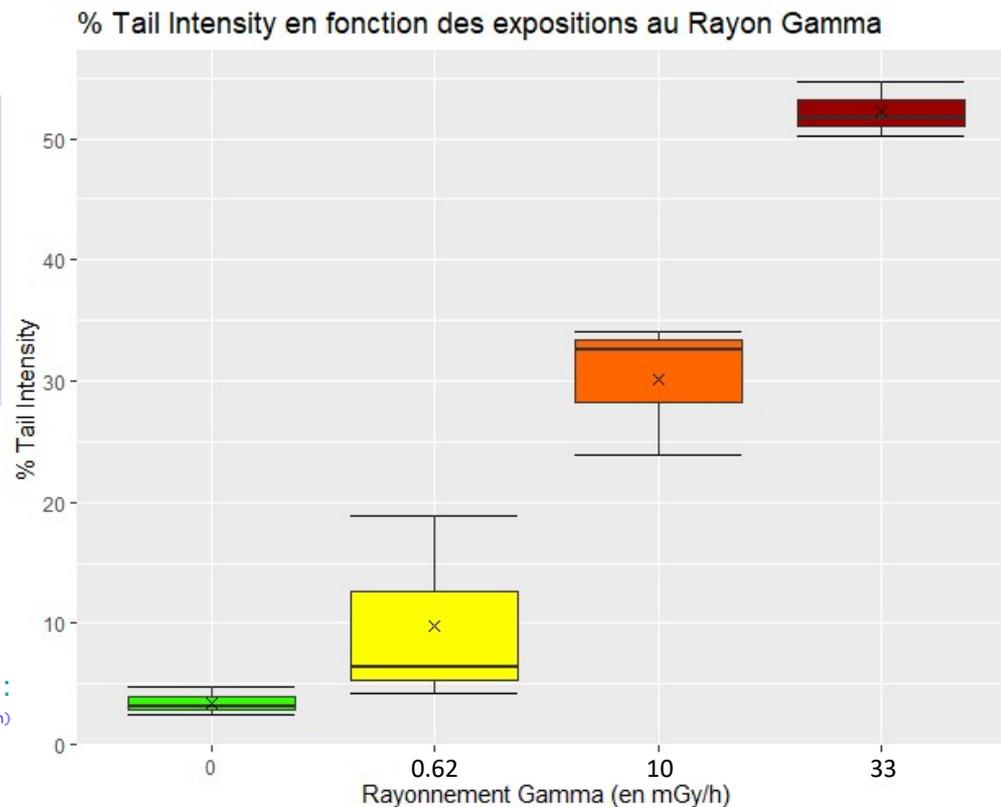
- Confirmation de l'altération des capacités reproductives des mâles
- ↑ Cassures à l'ADN et sites alkalis labiles avec le débit de dose dès 0.62 mGy/h

Test Statistique :
Kruskal-Wallis entre toutes les conditions :

```
> kruskal.test(TailIntensity~Rayonnement, data = TableauExpoRayon)
```

kruskal-wallis rank sum test

```
data: TailIntensity by Rayonnement
kruskal-wallis chi-squared = 9.9744, df = 3, p-value = 0.01879
```



PROJET GAMMARRI – RESULTATS

[TRAITEMENT DES DONNÉES - MODELISATION DOSE-REPONSE

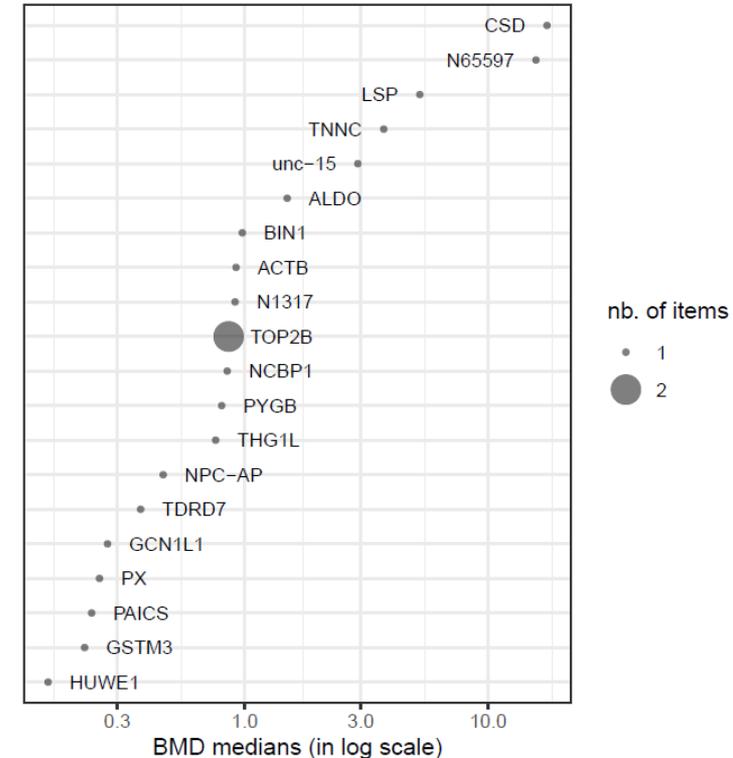
- | **Données protéomiques** : 974 protéines « femelles » (776 annotées²) ; 2167 protéines « mâles » (1801 annotées)
- | **DRomics** <-> Exploration, détermination du meilleur modèle, i.e. linéaire, (log-)Gauss-probit, exponentiel et analyse des tendances (croissante, décroissante, U, bell) – BenchMark Dose (BMD)

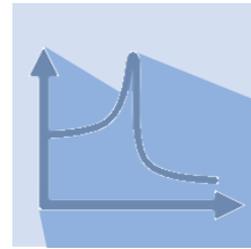
[TRAITEMENT DES DONNÉES - MODELISATION DOSE-REPONSE

Données protéomiques : 974 protéines « femelles » (776 annotées²) ; 2167 protéines « mâles » (1801 annotées)

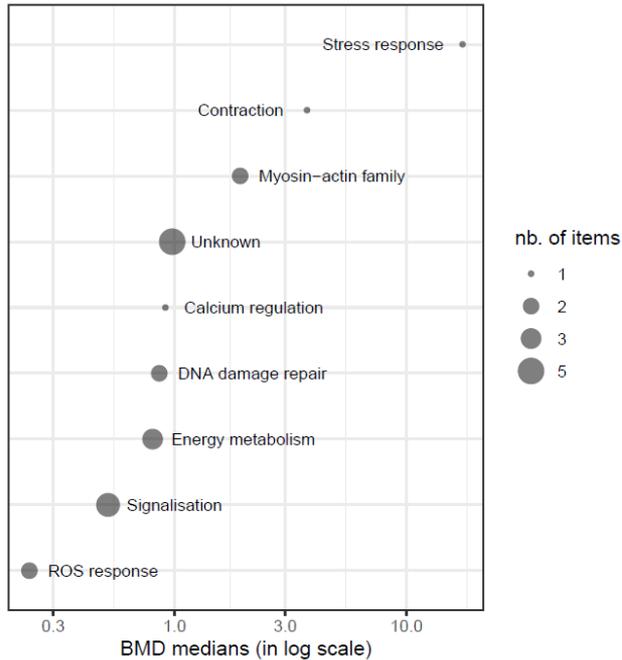
DRomics <-> Exploration, détermination du meilleur modèle, i.e. linéaire, (log-)Gauss-probit, exponentiel et analyse des tendances (croissante, décroissante, U, bell) – BenchMark Dose (BMD)

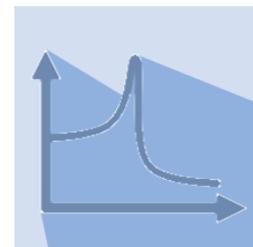
Modèles dose-réponse obtenus pour ~20 protéines dans les gonades mâles (pour aucune dans les gonades femelles) => **Détermination de la BMD**



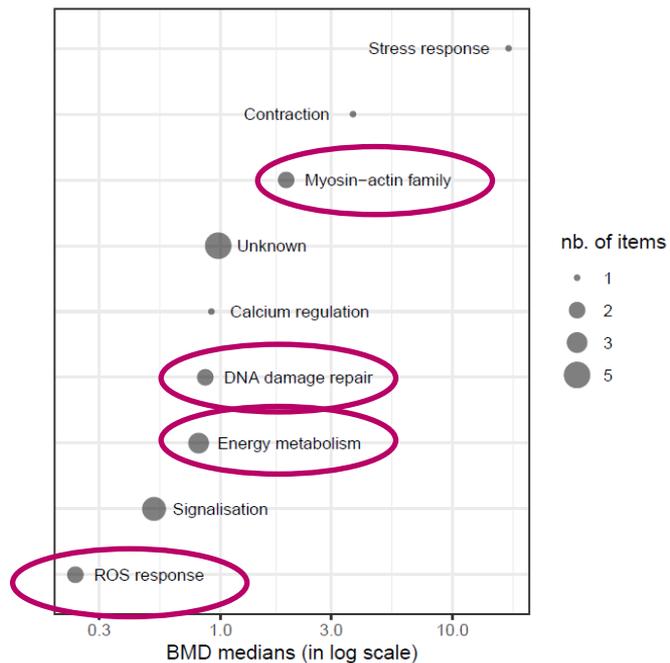


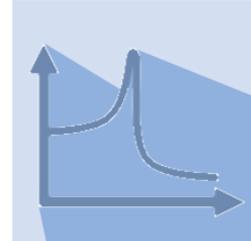
[TRAITEMENT DES DONNÉES - MODELISATION DOSE-REPONSE – PROCESSUS BIOLOGIQUES





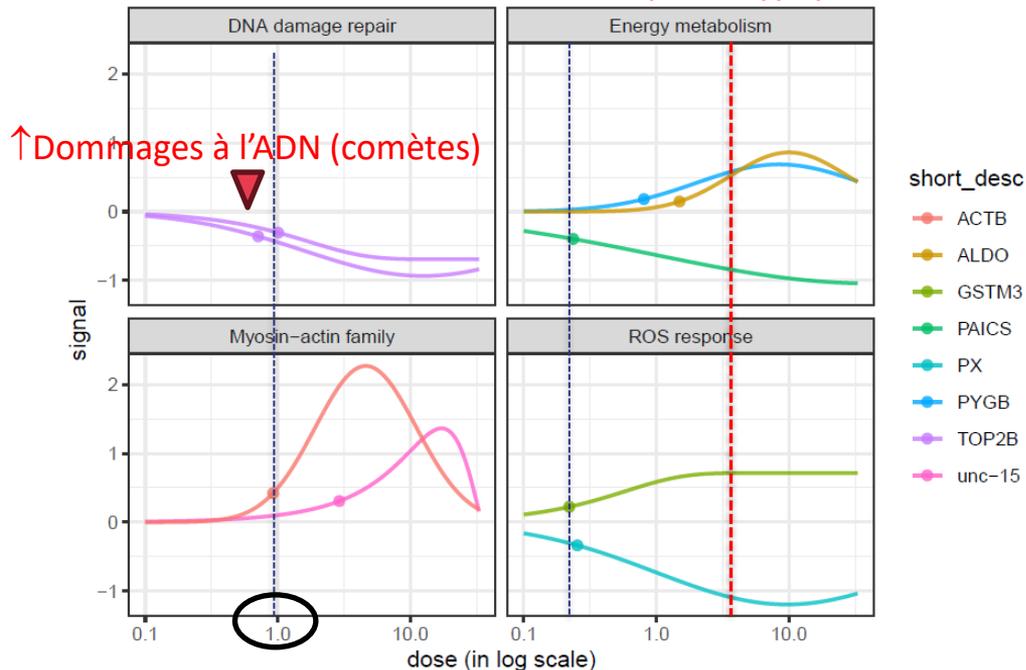
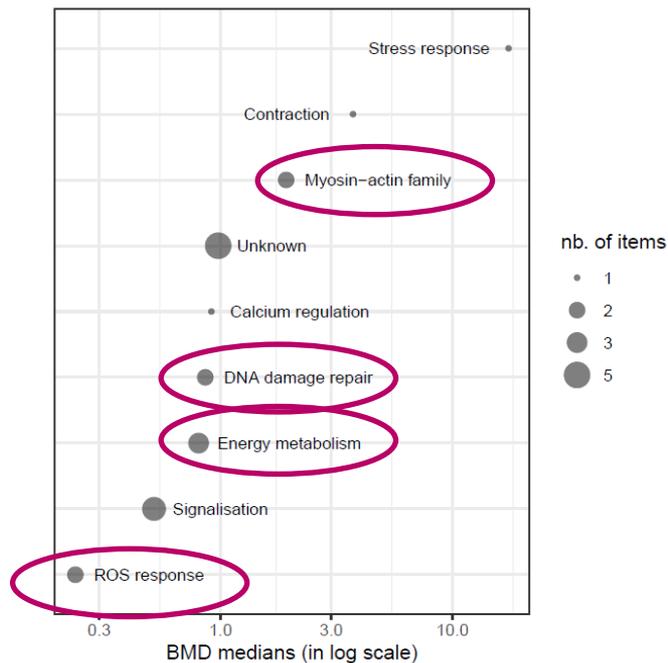
[TRAITEMENT DES DONNÉES - MODELISATION DOSE-REPONSE – PROCESSUS BIOLOGIQUES

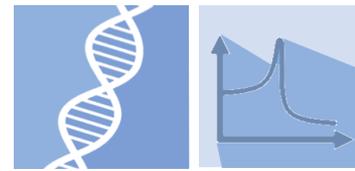




TRAITEMENT DES DONNÉES - MODELISATION DOSE-REPONSE – PROCESSUS BIOLOGIQUES

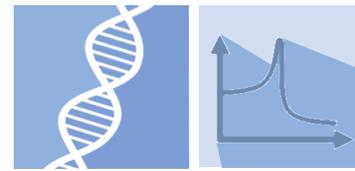
Effets phénotypiques





[ANALYSE DES PROCESSUS MIS EN JEU

- Résultats ROS, métabolisme énergétique, Myosin/actine, DNA repair concordants avec autres espèces (*Danio rerio*¹, *C elegans*², *Hyla orientalis*³)
- Voies d'action toxique retrouvées après exposition au Cd²⁺, génotoxique⁴

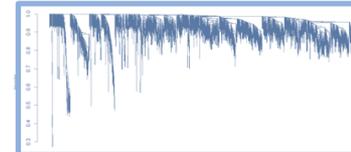


[ANALYSE DES PROCESSUS MIS EN JEU

- Résultats ROS, métabolisme énergétique, Myosin/actine, DNA repair concordants avec autres espèces (*Danio rerio*¹, *C elegans*², *Hyla orientalis*³)
- Voies d'action toxique retrouvées après exposition au Cd²⁺, génotoxique⁴

[PROCHAINES ÉTAPES – TRAITEMENT STATISTIQUE DES DONNEES A FINALISER

- Analyse préliminaire du réseau de coexpression des gènes⁵ montre 19 clusters pour les mâles, 4 pour les femelles => **clusters à analyser au regard des autres paramètres (dose, etc)**
- Protéines identifiées dans DRomics appartiennent majoritairement à 2 clusters



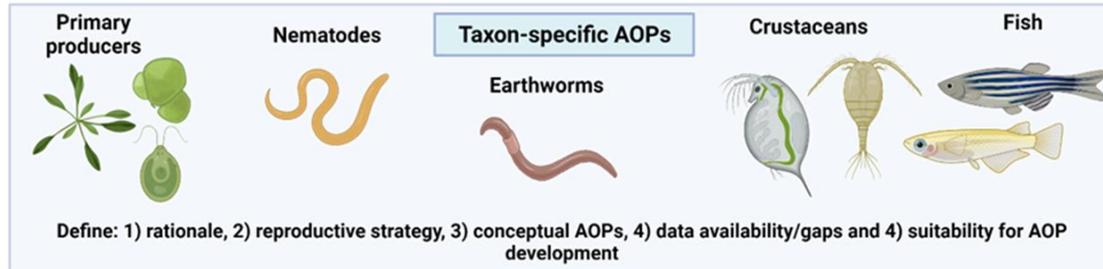
PROJET GAMMARRI – CONCLUSIONS

Adverse outcome pathways (AOPs) for radiation-induced reproductive effects in environmental species: state of science and identification of a consensus AOP network

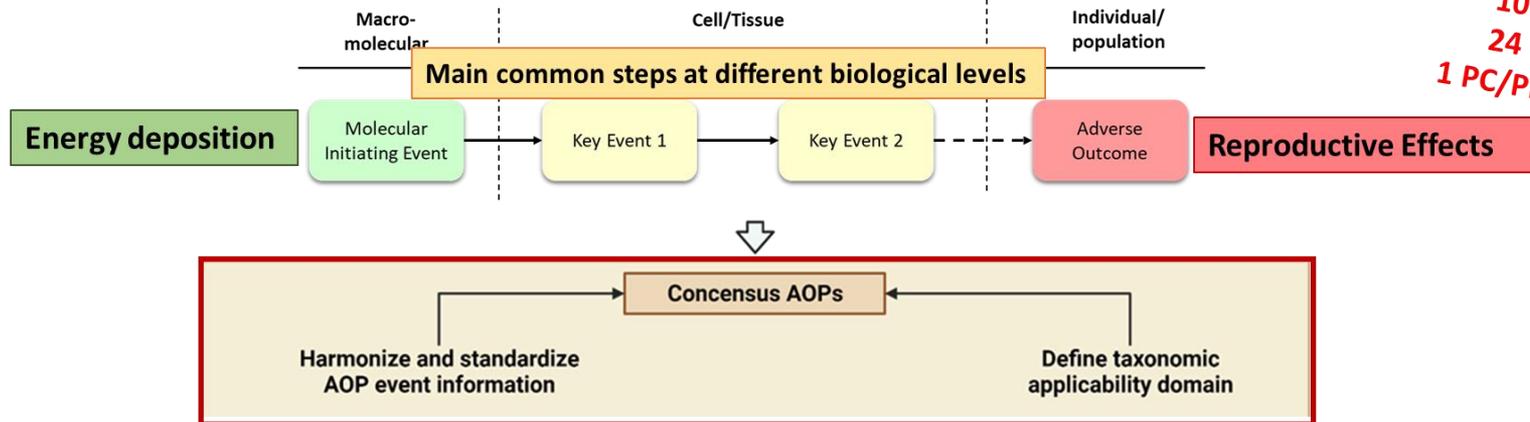
Knut Erik Tollefsen^{a,b,c}, Frédéric Alonzo^d, Nicholas A. Beresford^{e,f}, Dag Anders Brede^{b,c}, Elizabeth Dufourcq-Sekatcheff^g, Rodolphe Gilbin^h, Nele Horemans^g, Selma Hurem^{g,h}, Patrick Laboi^d, Erica Maremonti^{b,c}, Deborah Oughton^{b,c}, Olivier Simon^g, You Song^{h,c}, Michael D. Wood^g, Li Xie^g, and Sandrine Frelon^g



#AOP WIKI



108 papers
29 PP
30 PN
14 HA
10 PC
24 OF
1 PC/PN/HA



PROJET GAMMARRI – CONCLUSIONS

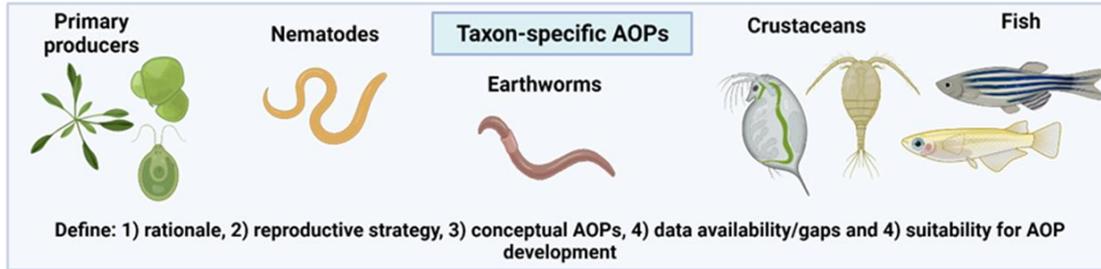


Adverse outcome pathways (AOPs) for radiation-induced reproductive effects in environmental species: state of science and identification of a consensus AOP network

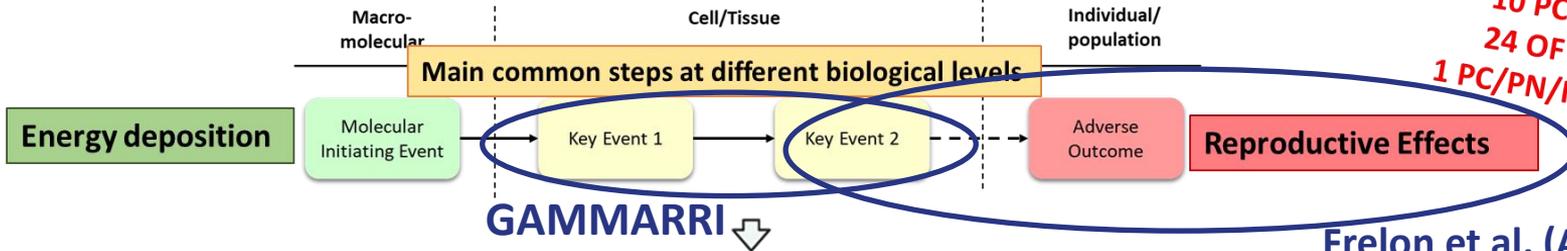
Knut Erik Tollefsen^{a,b,c}, Frédéric Alonzo^d, Nicholas A. Beresford^{e,f}, Dag Anders Brede^{b,c}, Elizabeth Dufourcq-Sekatcheff^g, Rodolphe Gilbin^h, Nele Horemans^g, Selma Hurem^{g,h}, Patrick Laboi^g, Erica Maremonti^{h,i}, Deborah Oughton^{h,i}, Olivier Simon^g, You Song^{h,i}, Michael D. Wood^g, Li Xie^g, and Sandrine Frelon^g



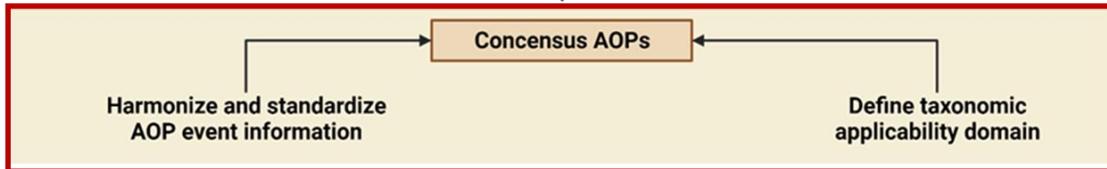
#AOP WIKI



108 papers
 29 PP
 30 PN
 14 HA
 10 PC
 24 OF
 1 PC/PN/HA



Frelon et al. (Acceptée)
 Env. Toxicol. Chem.



MERCI POUR VOTRE ATTENTION !



sandrine.frelon@irsn.fr

Nicolas Dubourg
Jean-Marc Bonzom



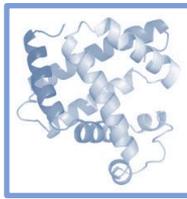
Marie-Laure Delignette-Muller



Davide Degli-Esposti
Rémi Recoura-Massaquant
Arnaud Chaumot
Olivier Geffard



Jean Armengaud
Jean-Charles Gaillard



[ANALYSE PROTEOMIQUE NON CIBLÉE

- **Extraction, concentration et digestion des protéines** des gonades de 6 individus par condition (mâles et femelles)
- **Analyse protéomique label free :**
 - Séparation des peptides par nanoHPLC
 - Analyse par spectrométrie de masse (Orbitrap Exploris 480 - Thermo Fisher Scientific), utilisation des “spectral counts” et travail sur « abundance with only unambiguous peptides ».

