

## FICHE-RESUME PROJET ECCOREV

**Bisphenol A et Altération de la Spermatogénèse: projet BiPAS****Résumé**

Le projet proposé a pour but d'étudier les effets nocifs et les mécanismes d'action du **bisphénol A (BPA)**, un polluant environnemental utilisé dans l'industrie du plastique et suspecté d'être un perturbateur endocrinien, sur la spermatogénèse et la cancérogenèse. Pour ce faire, nous utiliseront un modèle original *ex-vivo* validé (coculture de cellules testiculaires germinales et de cellules de Sertoli chez le rat) et nous étudierons les étapes clefs de la spermatogénèse en alliant analyse physiologique et l'étude des modifications de l'expression des transcrits (transcriptomique) sous l'effet du BPA. Cette étude devrait faire émerger des gènes/protéines altérés par le BPA susceptibles de servir de support de tests pour des puces ADN dédiées à la toxicologie. Ce partenariat n'a que très rarement été mis en œuvre en toxicologie de la reproduction entre physiologiste, cytobiologiste et toxicologue, et jamais sur le BPA.

**Résultats principaux***Tests de cytotoxicité*

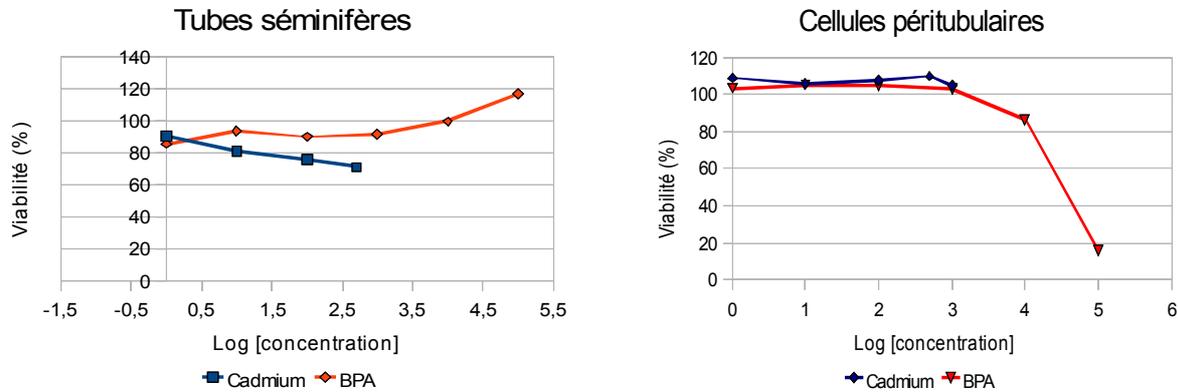
Suivant les recommandations du comité de sélection, nous avons mis en œuvre un test préliminaire sur une large gamme de concentrations de BPA sur les co-cultures de cellules testiculaires germinales et de cellules de Sertoli de rat. Les résultats de ce test de cytotoxicité, basé sur la mesure de l'ATP intracellulaire, nous permettront de cibler les concentrations de BPA à mettre en œuvre pour les expériences ultérieures afin de ne pas trop compromettre la viabilité cellulaire. Les triplicats de culture sont en cours.

Au vu de l'absence d'effet du BPA sur la viabilité des cellules des tubes séminifères exposés 24h à ce toxique, nous avons également testé l'effet du BPA sur une lignée de cellules (somatiques testiculaires) périvitubulaires, et comparé l'effet du BPA à celui du cadmium, dont nous avons observé par ailleurs les effets délétères sur les cellules germinales présentes dans les tubes séminifères en culture mais pas sur les cellules somatiques de ces tubes. Il ressort qu'au bout de 24h, si le BPA, même à très forte concentration, n'altère pas la viabilité des cellules des tubes séminifères, il altère la viabilité des cellules périvitubulaires.

Inversement, le cadmium n'altère pas la viabilité des cellules périvitubulaires, mais affecte la viabilité des cellules des tubes séminifères. (Figure 1).

Ces premiers résultats nous laissent penser que les mécanismes d'action doivent être différents.

**Figure 1** : Courbes de cytotoxicité obtenues par mesure de l'ATP intracellulaire. Cultures en plaques 96 puits et action de la substance pendant 24h. Résultats en pourcentage de la viabilité par rapport aux cellules témoin non traitées.



(les concentrations sont en nM pour le BPA et en µg/L pour le Cd)

### *Etude cytogénétique de la méiose*

Nous avons achevé l'analyse de la première série de cultures de tubes séminifères sans et avec (1nM/L et 10nM/L) de bisphénol A, aux jours 6, 14 et 21 de culture ; 1350 spermatocytes de premier ordre ont été analysés. Cette étude montre une très nette augmentation des défauts d'appariement des chromosomes homologues (asynapsis) avec la concentration de BPA dans le milieu de cultures, 50% de ces cellules montrant cette anomalie avec la concentration 10 nM au jour 21 (Figure 2).

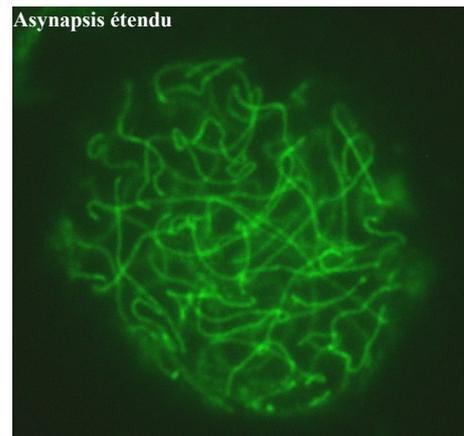


Figure 2

### *Toxicogénomique*

La partie relevant de la toxicogénomique sera mise en œuvre sous forme d'une seule campagne de puces d'expression lorsque toutes les cultures auront été réalisées. Cette campagne couvrant l'extraction des ARN totaux, la vérification de leur quantité, de leur qualité, leur marquage fluorescent ainsi que l'hybridation sur puces en mode temporel est prévue en septembre-octobre. Suivront l'exploitation informatique et statistique des données, ainsi que la mise en perspective biologique des résultats obtenus (gènes modulés, voie de régulation impactées, mode d'action possible) basée sur l'expertise physio toxicologique interdisciplinaire des participants.

## Consortium

### **Odette PRAT**

**Responsable du groupe “ Transcriptomique” au sein de l’Institut de Biologie Environnementale et de Biotechnologie, Service de Biochimie et Toxicologie Nucléaire, Laboratoire de Protéines Cibles de Toxiques Environnementaux, Marcoule.**

CEA / iBEB/ SBTN/ LEPC

Site de Marcoule

BP 17171

F-30207 Bagnols-sur-Ceze

Tel +33466791914

Fax +33466791905

Email [odette.prat@cea.fr](mailto:odette.prat@cea.fr)

### **Marie-Roberte GUICHAOUA**

**Responsable de l’UF de Spermiologie (3201) laboratoire de Biologie de la Reproduction, Hôpital de la Conception, Marseille.**

Laboratoire de Biologie de la Reproduction

Hôpital de la Conception, 147, Bd Baille, 13385, Marseille cedex 5

Laboratoire de Biogénotoxicologie et Mutagenèse Environnementale EA 1784

FR CNRS 3098 ECCOREV , Europôle de l’Arbois

13100 Aix-en-Provence

Tél +33491383749

Fax + 33491383897

Email [mguichaoua@ap-hm.fr](mailto:mguichaoua@ap-hm.fr)

### **Philippe DURAND**

**Responsable du groupe "Génomique Fonctionnelle de la Reproduction" de l'Institut de Génomique Fonctionnelle de Lyon depuis 2007.**

Institut de Génomique Fonctionnelle de Lyon

(IGFL – UCBL) UMR 1288.

Ecole Normale Supérieure, 69364. Lyon

Tel 04 72 72 89 65

Email [Philippe.Durand@ens-lyon.fr](mailto:Philippe.Durand@ens-lyon.fr)

## Publication prévue en 2012

## Réalisation budgétaire

Budget réalisé à 100 %. La somme allouée de 8700 € a été dépensée comme suit :

Réactifs immunocytochimie 2812 €

Réactifs transcriptome 5888 €