

## De la génotoxicologie à la biosurveillance

**Thierry Orsière, I Sari-Minodier, L Decome, C Botta,  
G Iarmarcovai, A Botta**

### **Résumé**

*Dans le cadre des relations santé - environnement, le domaine de la toxicologie génétique s'est révélé être essentiel puisque la détermination des facteurs environnementaux susceptibles d'interagir, directement ou non, avec le patrimoine génétique des cellules s'inscrit désormais dans la prévention des risques cancérigènes et de la toxicité vis-à-vis de la reproduction. Ainsi, la génotoxicologie, qui a pour objet l'identification des agents génotoxiques, la détermination des mécanismes moléculaires et cellulaires impliqués dans les phases de bioactivation, d'interaction avec l'ADN, de réparation des lésions primaires, et l'évaluation des conséquences initiales des dites lésions, a développé un certain nombre de tests de génotoxicité permettant de déceler les lésions primaires de l'ADN (tests des comètes, détection des adduits...), les mutations géniques (test d'Ames), chromosomiques et génomiques (test des micronoyaux). La surveillance biologique des expositions professionnelles à des environnements potentiellement cancérigènes fait aujourd'hui de plus en plus fréquemment appel à des stratégies incluant des tests de génotoxicité. Elle peut être utile lorsqu'elle s'inscrit en complément de toutes les autres actions de prévention des cancers professionnels car ces tests révèlent des événements biologiques contemporains de l'exposition et permettent d'optimiser les actions de prévention.*

### **Introduction**

Il est bien établi que l'ADN représente le support moléculaire biologique porteur de l'information génétique de la plupart des êtres vivants, à l'exception notable des virus à ARN. Cette macromolécule doit donc être extraordinairement stable afin que soit maintenu le haut degré de fidélité du patrimoine génétique. Cependant, la structure primaire de la molécule d'ADN, c'est-à-dire la séquence des bases

nucléotidiques, est une structure dynamique sujette à de constants changements. Par exemple, la transposition de gènes, l'altération de bases ou de nucléotides sont des phénomènes bien connus au niveau des cellules procaryotes et eucaryotes. Ces variations sont consécutives, d'une part à des erreurs spontanées, d'autre part à des lésions de l'ADN induites par des agents physiques ou chimiques qualifiés de génotoxiques. Il est également apparu que la survenue de mutations au niveau des cellules somatiques induit l'initiation d'un processus carcinogénique. Au niveau germinale, les mutations peuvent induire des infertilités ou se transmettre à la descendance. Dès lors, le domaine de la toxicologie génétique s'est révélé être essentiel puisque la détermination des facteurs environnementaux susceptibles d'interagir, directement ou non, avec le patrimoine génétique des cellules est devenue nécessaire dans le cadre de la prévention des risques cancérigènes et de la toxicité vis-à-vis de la reproduction. Cela s'est récemment traduit, au niveau législatif, par le décret CMR qui élargit le champ de prévention du risque cancérigène aux agents mutagènes et toxiques pour la reproduction.

### **Biomarqueurs de mutagenèse...en construction**

Différents niveaux d'altérations du patrimoine génétique ont été identifiés, leurs causes et conséquences sont de plus en plus étudiées et de multiples tests de génotoxicité ont été établis pour caractériser les propriétés des agents génotoxiques et pour prévenir les conséquences des altérations de l'ADN.

#### **Adresse de correspondance et demande de tirés-à-part**

Thierry Orsière  
Laboratoire de Biogénotoxicologie et Mutagenèse  
Environnementale (EA 1784 ; IFR PMSE 112)  
Faculté de Médecine, 27 Bd Jean Moulin, 13385 Marseille cdx 05.  
Tel : 04 91 32 45 48 ; Fax : 04 91 32 45 72  
E-mail <Thierry.Orsiere@medecine.univ-mrs.fr>

Dans des contextes bien spécifiques, des applications de plus en plus nombreuses de ces tests sont mises en œuvre pour définir la nocivité ou l'innocuité des ambiances professionnelles vis-à-vis de l'ADN de cellules prélevées sur des travailleurs exposés ; il s'établit ainsi un transfert de la génotoxicologie à une forme particulière de biosurveillance qui consiste, tantôt à évaluer la mutagénicité de fluides biologiques, notamment les urines, tantôt à rechercher des lésions primaires de l'ADN, voire des mutations géniques ou chromosomiques en relation avec une exposition professionnelle. Ces démarches de biosurveillance faisant appel à des tests de génotoxicologie sont complexes. En effet, elles nécessitent que soient bien appréciés la signification des biomarqueurs utilisés, les limites interprétatives des analyses et les pré requis pour que ces outils, a priori employés dans le cadre d'une prévention des effets mutagènes, ne soient détournés à des fins de médecine prédictive, voire sélective. En outre, l'absence actuelle de signatures moléculaires pour la plupart sinon tous les cancérigènes professionnels limite très sérieusement la possibilité de clairement définir une relation de causalité entre l'exposition professionnelle et le(s) biomarqueur(s) évalué(s). Enfin, ces biomarqueurs, s'inscrivant le plus souvent dans une démarche de prévention du risque cancérigène doivent-ils avoir fait ou non la preuve de leur association statistique avec la survenue de cancer ? En médecine et santé au travail, sur un plan éthique, est-il acceptable de déterminer des paramètres biologiques en relation avec le risque de cancer ? La difficulté de la démarche, du fait de son caractère novateur, apparaît ainsi en quelques questions.

Néanmoins, face à l'indigence des stratégies de prévention clinique du risque de cancer et conscient du fait qu'aucun niveau d'exposition autre que zéro, situation qu'il n'est la plupart du temps pas possible d'obtenir sur le terrain, n'est réellement satisfaisant face à un mutagène, la biosurveillance faisant appel aux tests de génotoxicologie peut apporter des informations précieuses et utiles en prévention des risques de cancers professionnels.

### L'ADN dans tous ses états...d'altérations

L'ADN est une macromolécule biologique à laquelle sont attribuées les structures primaire, secondaire et tertiaire. Il apparaît que la séquence en nucléotides (structure primaire), la configuration et la situation des nucléotides au sein de la double hélice (structure secondaire) et l'état sous lequel se trouve la molécule d'ADN (en cours de réplication ou de transcription, sous forme de chromatine ou de chromosome : structure tertiaire) jouent un rôle considérable dans la survenue des lésions puis des mutations. En effet, l'accessibilité des sites nucléophiles de l'ADN aux attaques électrophiles des agents génotoxiques n'est pas la même et la mise en œuvre des systèmes de réparation de l'ADN varie considérablement d'une situation à l'autre. Par ailleurs, il existe une très grande variété des degrés d'altération de l'ADN. Il est en effet classique de distinguer les lésions primaires à l'ADN, les mutations géniques, chromosomiques (effets clastogènes) et génomiques (effets aneugènes) (Fig. 1). Les lésions primaires à l'ADN représentent le premier stade consécutivement à l'action d'un agent génotoxique.

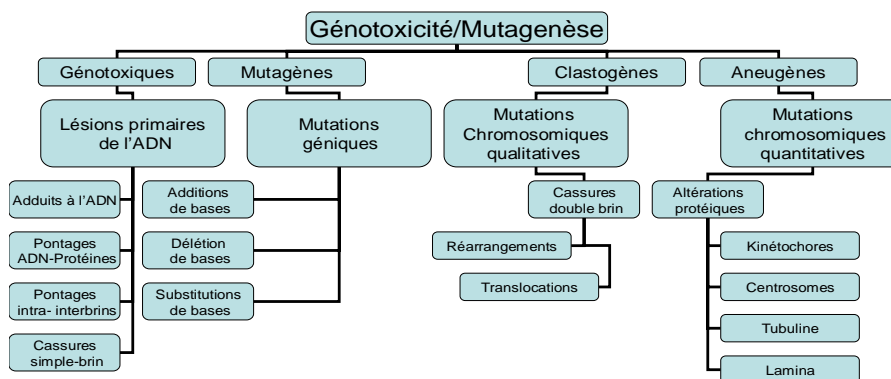


Figure 1 : Diversité des altérations de l'ADN en terme de lésions et de mutations

L'ADN est chimiquement modifié : on observe tantôt des ruptures de liaisons covalentes qui, lorsqu'elles se situent sur le désoxyribose, conduisent à des cassures de brins, tantôt l'établissement de liaisons covalentes conduisant à des adduits, à des alkylations de bases, à des pontages ADN - ADN intra- ou inter- brin par exemple... Ces modifications de la structure chimique de l'ADN font l'objet d'une réparation parfaite ou fautive. Dans ce dernier cas de figure, il apparaît alors des mutations, modifications stables du patrimoine génétique transmissibles de division cellulaire en division cellulaire. A ce niveau, on distingue les mutations concernant une à quelques paires de bases, qualifiées de mutations géniques, et les mutations chromosomiques de structure concernant le plus souvent des dizaines de kilobases. La dernière classe de mutations concerne les modifications chromosomiques de nombre. On parle également de mutations génomiques, et il est intéressant de noter que ces anomalies chromosomiques de nombre ne sont le plus souvent pas consécutives à des interactions moléculaires au niveau de l'ADN.

## Quelques outils pour évaluer les différents états d'altération de l'ADN

La génotoxicologie est une discipline scientifique ayant essentiellement pour objet l'identification des agents génotoxiques, la détermination des mécanismes moléculaires et cellulaires impliqués dans les phases de bioactivation, d'interaction avec l'ADN, de réparation des lésions primaires, et l'évaluation des conséquences initiales des dites lésions. Compte tenu de la grande diversité des anomalies susceptibles d'être induites au niveau d'un patrimoine génétique, il n'existe pas un mais plusieurs tests de mutagenèse susceptibles de révéler tels ou tels types de lésions ou de mutations. D'une manière générale, il faudra en associer plusieurs pour apprécier sur un type cellulaire quelconque à la fois les intensités des lésions primaires de l'ADN et les mutations géniques et chromosomiques. Tout comme les anomalies de l'ADN, ces tests peuvent également être classés en tests de lésions primaires à l'ADN, en tests de mutations géniques, chromosomiques et génomiques.

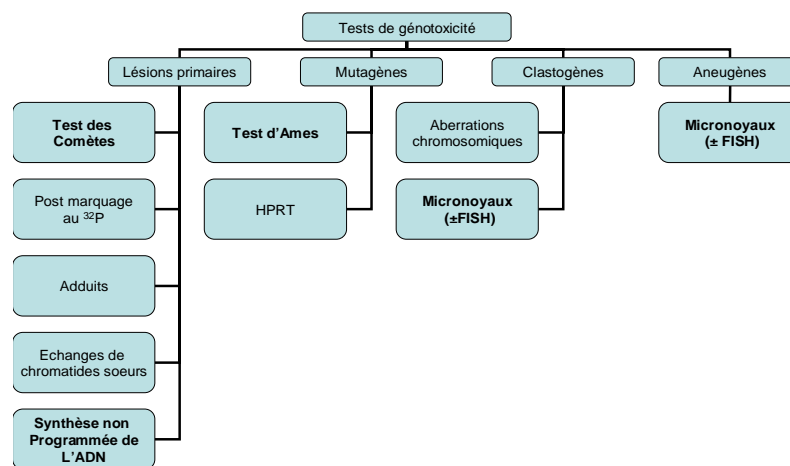


Figure 2 : Principaux tests de génotoxicité déclinés en tests mesurant les lésions primaires, les mutations géniques (mutagènes), chromosomiques (clastogènes) et génomiques (aneugènes)

Les principaux tests de mutagenèse fréquemment rencontrés dans des protocoles de surveillance biologique de populations exposées à des cancérrogènes mutagènes sont les tests des comètes, de détection des adduits, d'Ames et des micronoyaux. Il s'avère qu'ils sont complémentaires les uns des autres.

Le test de comètes quantifie les cassures simples et doubles brins de l'ADN. Ces dernières sont tantôt directement induites par le génotoxique (avec ou sans bioactivation), tantôt consécutives au stress oxydatif induit par l'agent, tantôt la conséquence de la mise en œuvre de système de réparation de l'ADN. Dans tous les cas, ce sont des lésions primaires à l'ADN qui sont quantifiées. Il en est de même avec les tests mesurant les adduits ainsi qu'avec les tests évaluant l'intensité des réparations de l'ADN. L'évaluation des capacités des agents à induire des mutations géniques est classiquement réalisée au moyen du test d'Ames sur des souches de *Salmonella Typhimurium*. Ce test appliqué aux urines de sujets exposés permet de quantifier la présence de mutagènes dans leurs urines. Enfin, le test des micronoyaux permet de détecter les environnements induisant des anomalies chromosomiques de nombre et/ou de structure. L'association des techniques d'hybridation *in situ* fluorescente de sondes centromériques permet de distinguer les anomalies structurales des anomalies numériques.

## Conclusion

La surveillance biogénotoxicologique peut être utile lorsqu'elle est inscrite en complément de toutes les autres actions de prévention des cancers professionnels. Les tests de génotoxicité permettent de mesurer non pas la concentration en tel ou tel toxique mais la combinaison des effets de l'environnement pris dans sa globalité. Ils intègrent probablement également la susceptibilité individuelle de chacun vis-à-vis de cet environnement pluriel. Les incertitudes qui demeurent quant à la variabilité individuelle et à la relation causale entre l'élévation de ces biomarqueurs et un environnement donné n'autorisent à l'heure actuelle qu'une interprétation collective des résultats. C'est néanmoins ce type d'études populationnelles qui permettra d'identifier des situations de travail à risque. Toutefois, il ne faut pas oublier les limites de la surveillance biologique au moyen de ces biomarqueurs : les événements biologiques ne sont pas systématiquement associés au développement d'un processus carcinogénique. De surcroît, ce type de biomarqueur est le plus souvent quantifié sur un tissu accessible au prélèvement et non sur le tissu susceptible de subir une progression tumorale. Néanmoins, ils permettent de révéler des événements biologiques contemporains de l'exposition et optimisent les actions de prévention.