

Ionisations K sur l'ADN : mort cellulaire et aberrations chromosomiques

A. Chetioui, B. Fayard, M.A. Hervé du Penhoat, A. Touati, M.F. Politis, F. Abel, F. Gobert, C. Champion et A. L'Hoir

Groupe de Physique des Solides, Universités Paris 6 et Paris 7, UMR 75-88 du CNRS, Tour 23, 2 place Jussieu, 75251 Paris cedex 05, France

Résumé : L'hypothèse d'un rôle biologique important des événements d'ionisation en couche interne ("K") de l'ADN est examinée. En ce qui concerne la mort cellulaire, ce rôle est confirmé par des mesures d'efficacité létale des événements "K" utilisant les rayons X ultra-mous comme sonde. En outre la mise en évidence d'une corrélation entre mort cellulaire et cassures double brin d'ADN (CDB) quand ces phénomènes sont quantifiés par rapport aux nombres d'ionisations "K" sur l'ADN semble confirmer que cette molécule est bien le siège des effets létaux et pourrait indiquer que les CDB provenant d'ionisations "K" sur l'ADN constituent une classe majeure de lésions critiques de l'ADN.

1. INTRODUCTION

Les mécanismes de l'effet létal des radiations sont recherchés depuis plus de 30 ans et tout particulièrement leurs premières étapes, physicochimiques, biochimiques, et les lésions biomoléculaires critiques en résultant. Pour les théories successives, les paramètres physiques déterminants ont d'abord été macroscopiques (modèles basés sur la dose intégrée au noyau cellulaire) puis semi-macroscopiques (théories microdosimétriques basées sur une description différentielle de la dose) puis à l'échelle du nanomètre (modèle de D.T.Goodhead [1] des microdépôts d'énergie intenses, dits "clusters" d'ionisations, sur l'ADN). Cette dernière théorie, qui a évolué depuis vers des formes plus raffinées, substituant au concept de clusters d'ionisations celui de clusters de dommages, a été progressivement admise. Cependant nous avons suggéré [2] que les événements critiques pourraient se situer au niveau atomique même. En effet nous avons mis en évidence une très forte corrélation entre les sections efficaces d'inactivation par ions de divers transferts d'énergie linéaire (TEL) et les sections efficaces d'ionisation K des atomes de carbone (C), azote (N), oxygène (O), constituants essentiels de la matière biologique. Les caractéristiques des sections efficaces d'inactivation cellulaire –maximum pour une vitesse d'impact proche des vitesses des électrons K de C, N, O, et décroissance à basse vitesse d'impact et/ou grande charge incidente- sont des propriétés inhérentes aux sections efficaces d'ionisations K. Dans ce qui suit, les événements d'ionisation en couche interne incluant l'ionisation L du phosphore seront dits événements "K".

2. ETUDE DU ROLE BIOLOGIQUE DES EVENEMENTS D'IONISATION "K" DE L'ADN

2.1. Implication des événements "K" dans la létalité des rayonnements ionisants

Nous avons démontré la réalité d'une très forte implication des événements d'ionisation en couche interne dans la létalité due aux X mous et aux ions. Pour les X mous ce fait est naturel puisque ceux-ci ont une large probabilité de photoioniser les atomes de C, N, O, P en couche interne. Pour les ions, le fait est surprenant car les événements "K" ne représentent alors, comme pour les électrons rapides et les rayons γ , que quelques pour mille des interactions.

Nous avons déterminé l'efficacité létale des événements d'ionisation "K" en utilisant les X ultra-mous comme sonde. Comme il vient d'être indiqué, ces derniers possèdent la propriété unique d'interagir avec

la matière biologique essentiellement par photoionisation en couche interne : ~50 à ~70% de toutes les interactions avec l'ADN pour des énergies comprises entre le seuil L du phosphore et le seuil K de l'oxygène, > 96% au delà. Les expériences ont été réalisées au LURE. Des cellules de mammifères (hamster chinois V79) ont été irradiées avec des rayonnements monochromatiques d'énergies choisies pour exciter préférentiellement les couches L du phosphore (250 eV) [3], K du carbone (340 eV) [3] et K de l'oxygène (850 eV) [4] et les courbes de survie ont été établies [3, 5]. Les efficacités létales (probabilités de conduire à la mort de la cellule) associées à ces divers événements primaires ont été trouvées respectivement égales à 1,0%, 0,9% et 2,0%. Suivant les hypothèses utilisées pour l'extrapolation des efficacités létales des événements "K" induits par X ultra-mous à ceux induits par ions on trouve que la contribution des événements "K" à la mort cellulaire varie de ~50% à ~100% [3, 5]

2.2. Cible de la létalité et lésions moléculaires critiques

Enfin, nous avons aussi obtenu un ensemble de résultats cohérents pour l'induction de la mort cellulaire et de cassures double brin d'ADN (CDB), qui désignent comme cible vraisemblable de l'effet léta, l'ADN et son environnement proche. En effet, nous avons mis en évidence [3] un facteur 2 d'accroissement d'efficacité biologique relative (EBR) des X ultra-mous au passage du seuil K du carbone (fig.1). Celui-ci s'interprète bien dans le cas où la cible sensible est l'ADN car cette dernière molécule étant plus riche en carbone que le milieu cellulaire, les ionisations "K" sont alors concentrées sur elle. De plus, nous avons montré que les efficacités létales des événements "K" en C, N, O, P, qu'on peut extraire des mesures d'inactivation cellulaire sont bien corrélées avec les efficacités d'induction de CDB de ces mêmes événements si et uniquement si on s'intéresse aux seuls événements "K" de l'ADN et de son environnement proche [5]. Or une sous-classe particulièrement complexe de CDB est généralement considérée comme vecteur de la létalité. Il se pourrait donc que les CDB critiques pour la survie cellulaire soient les CDB résultant d'ionisations "K" sur l'ADN.

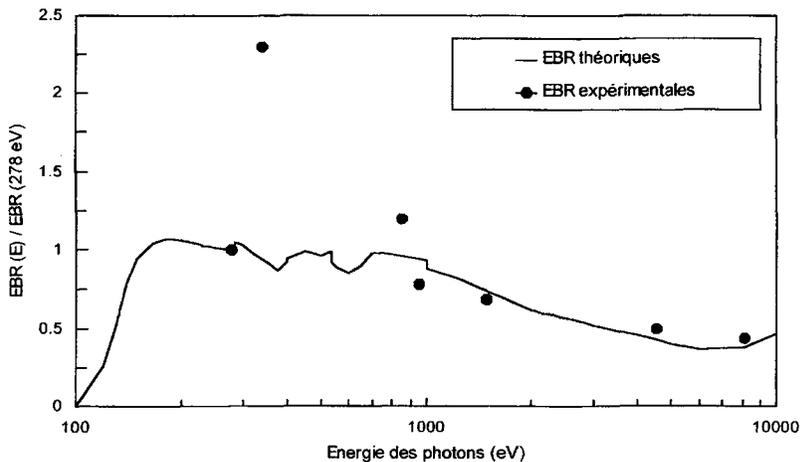


Figure 1 : EBR expérimentales des rayons X et EBR calculées dans le modèle des clusters d'ionisations [1, 3]. L'incertitude expérimentale sur l'EBR à 340 eV est de 20%.

2.3. Rôle des événements "K" dans l'induction d'aberrations chromosomiques

Les résultats préliminaires d'expériences effectuées au LURE semblent aussi indiquer un rôle majeur des événements d'ionisation de cœur dans l'induction d'aberrations chromosomiques d'échange (parmi ces dernières les translocations sont considérées comme marqueurs de certains cancers). En effet, les taux de

productions de remaniements dicentriques ont été trouvés dans les mêmes rapports que les probabilités de mort cellulaire.

3. REEXAMEN DU ROLE DES CLUSTERS D'IONISATION DANS L'EFFET BIOLOGIQUE DES RAYONNEMENTS

Nous avons mis en évidence un certain nombre d'éléments qui poussent à un réexamen de la théorie des clusters d'ionisations. En effet, nous avons montré que :

- pour le cas des ions, cette théorie ne permet pas de reproduire la valeur paradoxalement basse des sections efficaces d'inactivation à très hauts transferts d'énergie linéaire (TEL) [6] : des facteurs de désaccord de l'ordre de 20 sur le nombre d'événements létaux apparaissent entre résultats expérimentaux et prédictions de cette théorie.

- pour le cas des X mous, la théorie des clusters d'ionisations sur l'ADN ne permet pas de reproduire l'accroissement d'un facteur 2 de l'EBR pour des rayons X d'énergie au delà du seuil K du carbone. Nous venons de voir que cet accroissement est corrélé à une photoionisation préférentielle de l'ADN. Or la théorie des clusters est un modèle d'action délocalisée des photoionisations car les clusters se produisent préférentiellement en fin de parcours des électrons secondaires. De ce fait, elle n'accorde pas de rôle spécifique aux ionisations de toute nature (K ou L) se produisant sur l'ADN et ne prédit pas d'accroissement d'EBR de mort quand cette molécule est spécifiquement ionisée.

4. CONCLUSION

L'idée d'un effet léta important des événements "K" sur l'ADN n'est pas en soi surprenante car ceux-ci conjuguent type d'interaction physique la plus intense et site de la cellule le plus stratégique. L'hypothèse d'une participation majeure des événements "K" sur l'ADN à la létalité n'a cependant pas été systématiquement explorée car ces événements sont très rares (quelques pour ‰ de toutes les interactions pour les ions, e et γ). De nombreux travaux [7, 8] avaient pourtant indiqué une efficacité biologique importante des ionisations K du phosphore de l'ADN à l'énergie X de résonance. Ce phénomène corrobore totalement l'idée d'un rôle majeur des événements d'ionisation "K" sur l'ADN dans la létalité, bien que les ionisations K du phosphore aient elles-mêmes, globalement, une contribution négligeable à cette létalité des rayonnements ionisants.

Remerciements

Les expériences ont été effectuées au LURE. Le CEA (LRC N°6) et le CNES (contrat n° 793/99) ont soutenu financièrement ce projet.

Références

1. D.T. Goodhead, *Int. J. Radiat. Biol.*, **56**, 623-634 (1989).
2. A. Chetioui, I. Despiney, L. Guiraud, L. Adoui, L. Sabatier, and B. Dutrillaux, *Int. J. Radiat. Biol.*, **65**, 511-522 (1994).
3. M.-A. Hervé du Penhoat, B. Fayard, F. Abel, A. Touati, F. Gobert, I. Despiney-Bailly, M. Ricoul, L. Sabatier, D.L. Stevens, M.A. Hill, D.T. Goodhead, and A. Chetioui, *Radiat. Res.*, **151**, 649-658 (1999).
4. F. O'Neill, I.C.E. Turcu, G.J. Tallents, J. Dickinson, T. Lindsay, D.T. Goodhead, A. Stretch, C.W. Wharton, and R.A. Meldrum, *Photo-opt. Instrum. Eng.*, **1140**, 232-236 (1989).
5. B. Fayard. Cassures d'ADN induites par ionisation en couche interne et leurs conséquences biologiques. Thèse, Université Pierre et Marie Curie, Paris (1999).
6. C. Champion. Structure des dépôts d'énergie des ions rapides dans l'eau. Application à l'étude Monte Carlo de l'inactivation cellulaire. Thèse, Université Denis Diderot, Paris (1999).

- C. Champion, A. L'Hoir, M.F. Politis, A. Chetioui, B. Fayard, and A. Touati, *Nucl. Instrum. Meth. B*, **146**, 533-540 (1998).
7. M. Watanabe, M. Suzuki, K. Watanabe, K. Suzuki, N. Usami, A. Yokoya, and K. Kobayashi, *Int. J. Radiat. Biol.*, **61**, 161-168 (1992).
8. C. LeSech, H.Frohlich, C.Saint-Marc, and M.Charlier, *Radiat. Res.*, **145**, 632-635 (1996).