

**Détection d'adduits benzo[a]pyrène-ADN dans les
cellules mononucléaires périphériques d'ouvriers de
cokeries : corrélation à la capacité de fixation à l'ADN**

Margarita Rojas, Kroum Alexandrov, Guy Auburtin, Lucienne Mayer,
Bernard Mahieu, Agnès Wastiaux-Denameur, Patrick Sebastien, Helmut
Bartsch

► **To cite this version:**

Margarita Rojas, Kroum Alexandrov, Guy Auburtin, Lucienne Mayer, Bernard Mahieu, et al.. Détection d'adduits benzo[a]pyrène-ADN dans les cellules mononucléaires périphériques d'ouvriers de cokeries : corrélation à la capacité de fixation à l'ADN. 34. Journées Médicales de Charbonnages de France, Mar 1994, Saint-Etienne, France. pp.142-145. ineris-00971907

HAL Id: ineris-00971907

<https://hal-ineris.archives-ouvertes.fr/ineris-00971907>

Submitted on 3 Apr 2014

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.

Détection d'adduits benzo[a]pyrène-ADN dans les cellules mononucléaires périphériques d'ouvriers de cokeries : corrélation à la capacité de fixation à l'ADN.

M. Rojas¹, K. Alexandrov¹, G. Auburtin², L. Mayer³, B. Mahieu², A. Wastiaux-Denameur², P. Sébastien² et H. Bartsch⁴

¹Centre International de Recherche sur le Cancer, Lyon (France);
²Institut National de l'Environnement Industriel et des Risques, Verneuil en Halatte(France); ³Houillères du Bassin de Lorraine, Freyming-Merlebach(France); ⁴Centre Allemand de Recherche sur le Cancer, Heidelberg(Allemagne).

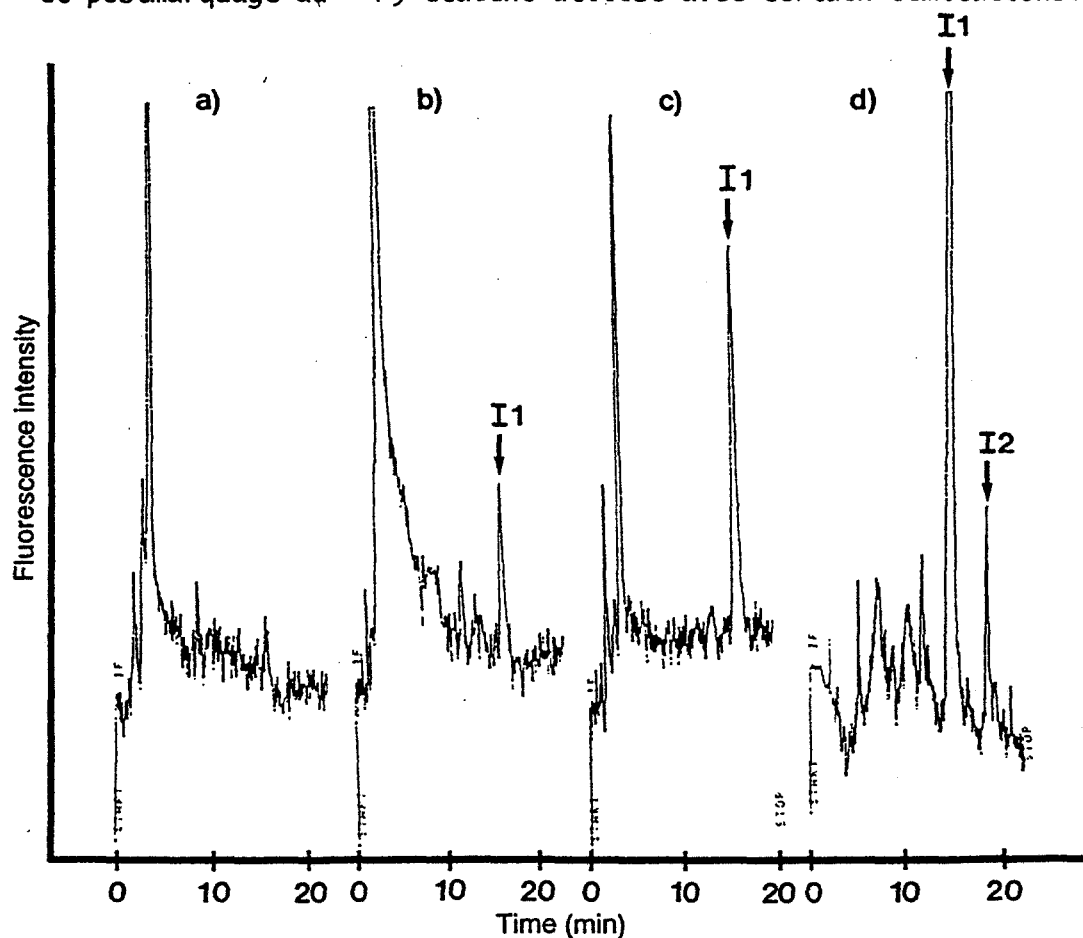
Un des objectifs des enquêtes d'épidémiologie moléculaire sur le risque de cancer du poumon est de caractériser le rôle que jouent les facteurs d'hôtes dans les événements critiques menant à l'activation de cancérogènes qui, eux, peuvent provoquer des lésions à l'ADN humain. La formation d'adduits de l'ADN étant considérée comme un événement critique de la tumorigenèse, on estime que les variations interindividuelles (génétiquement déterminées) de l'activation de cancérogènes sont un important déterminant de la prédisposition au cancer.

Une plus grande efficacité de la formation d'adduits benzo[a]pyrène-ADN peut jouer un rôle étiologique, tout au moins chez certaines personnes prédisposées génétiquement au cancer du poumon. On a pu mesurer de grandes variations entre individus pour qui est des niveaux d'adduits chez des ouvriers exposés à des niveaux semblables de HAP(1,2). La prédisposition éclaire quelque peu les vastes différences entre individus quant au risque de cancer du poumon chez les personnes dont l'exposition est semblable.

Dans cette étude, nous sommes particulièrement attachés au rôle des facteurs d'hôte et aux facteurs environnementaux dans l'activation métabolique in vitro du benzo[a]pyrène et de la formation in vivo d'adduits benzo[a]pyrène-ADN dans des cellules mononucléaires humaines (lymphocytes plus monocytes) de chaque sujet chez 39 ouvriers de cokerie exposés à des niveaux élevés de HAP (et particulièrement au BP), et chez 39 témoins locaux non exposés. Les expériences in vitro montrent des variations individuelles importantes pour ce qui est de la capacité de fixation du BP à l'ADN des lymphocytes et des monocytes. Ces résultats n'étaient pas liés à une différence d'âge ou un facteur de tabagisme chez ces sujets, ces variables n'étant pas corrélées à la capacité de fixation. Les expériences in vitro montrent que l'activation du benzo[a]pyrène a été décelée dans 46 des 78 échantillons d'ADN. Le nombre d'échantillons positifs et la capacité

moyenne de fixation du groupe témoin (145 ± 174 amol/ μg d'ADN) ne différaient pas de façon significative des résultats du groupe des cokiers exposés (178 ± 360 amol/ μg d'ADN), et la capacité de fixation benzo[a]pyrène-diol était plus élevée dans le groupe témoin ($13,3 \pm 8,3$ fmol/ μg d'ADN) par rapport au groupe exposé ($9,0 \pm 8,5$ fmol/ μg d'ADN). Les résultats ne mettent en évidence aucune corrélation entre les capacités de fixation du benzo[a]pyrène et du benzo[a]pyrène-diol ce qui laisse penser que différents types d'enzymes du cytochromes P450 y jouent un rôle. L'inductibilité de l'AHH dans les lymphocytes chez les travailleurs exposés (moyenne : 16 ± 8 pmol/mg/h) ne différait pas de façon significative de celle des témoins non exposés (19 ± 7 pmol/mg/h). On a pu fréquemment observer des variations de l'activité de l'AHH entre individus, variations d'une amplitude d'un facteur 9 et 7, respectivement, pour les sujets exposés et les témoins non exposés. On attribue généralement cette variabilité à un contrôle génétique direct et à des expositions environnementales et professionnelles aux cancérigènes.

Recentement nous avons mis au point une nouvelle méthode pour mesurer *in vivo* les adduits du benzo[a]pyrène à l'ADN du poumon et es lymphocytes humains (4,5). Cette méthode est (i) spécifique pour le benzo[a]pyrène et (ii) peut mesurer un adduit à 10^8 nucleotides. La figure suivante represente un exemple d'analyse des adduits chez 4 ouvriers exposés au BP, un sans la formation (a), et trois autres (b,c,d) formant different taux d'adduits. C'est pour la première fois qu'il est possible de mesurer d'adduits BP-ADN des lymphocytes avec une grande specificité et selectivité. Les méthodes précédents (ELISA et postmarquage au ^{32}P) étaient utilisé avec certain limitations.



L'application actuelle de notre nouvelle méthode (3,4) a permis de mesurer des adduits BP-ADN à des taux différents des taux HAP-ADN signalés dans la littérature et suivant une procédure ELISA et postmarquage au ^{32}P . Le tableau suivant donne les résultats de notre étude sur les adduits BP-ADN dans les lymphocytes des travailleurs en cokerie et des sujets non-exposés au HAP (controls):

Sujets	Taux des Adduits ^a	Range	No detectés essayés (%)
<u>Exposés</u>			
Total	15,5(37,9)	2-198	20/39(51)
Fumeurs	22,0(47,9)	2-198	12/23(52)
Non-fumeurs	6,1(10,6)	4- 42	8/16(50)
<u>Controls</u>			
Total	1,9(8,5)	1- 53	7/39(18)
Fumeurs	0,7(1,7)	1- 6	4/23(17)
Non-fumeurs	3,6(13,2)	2- 53	3/16(19)

^a adduits/ 10^8 nucleotides, moyenne (s.d.). Les taux moyennes étaient calculé. Pour les non-detectés un valeur de zero adduits a été assigné.

Dans le groupe non exposé (témoins), et à l'exception d'une personne, nous avons trouvé des adduits à peine décelables chez 6 sujets sur 39 (moyenne : $1,9 \pm 8,5$ adduits/ 10^8 nucleotides). Les ouvriers exposés au BP répodaient différemment : la moitié ne formaient pas des adduits décelables tandis que l'autre moitié (51%) formaient des adduits à partir du BP à des taux différents (moyenne: $15,5 \pm 37,9$ adduits/ 10^8 nucleotides). La majeure partie des sujets exposés positifs (16 sur 20) donnaient des niveaux de fixation entre 2 et 14 adduits pour 10^8 nucleotides, et 4 des ouvriers témoignaient d'une formation élevée d'adduits de l'ADN (valeur > 100 adduits pour 10^8 nucléotides). Les niveaux d'adduits étaient 3,5 fois plus élevés chez les ouvriers des cokeries fumeurs que chez les non-fumeurs, mais le chercheurs utilisant la méthode ELISA n'ont pas trouvé de telles différences (5). On n'a pas constaté de corrélation entre la formation in vivo d'adduits BP-ADN et la capacité de fixation in vitro de BP à l'ADN des cellules. Il semble que différents mécanismes soient à l'œuvre dans l'activation et l'inactivation in vitro et in vivo du BP.

Les résultats semblent montrer que l'activation et l'inactivation génétiquement contrôlées du BP in vivo jouent un rôle dans la prédisposition au cancer du poumon, et suggèrent que des génotypes susceptibles de formation d'adduits BP-ADN pourraient

contracter des carcinomes du poumon induits par le BP lorsqu'ils y sont exposés. Les individus d'un génotype susceptible de formation d'adduits courraient un risque plus élevé pour une dose d'exposition semblable ou même faible de BP, par rapport aux sujets d'un génotype non prédisposé. Ainsi, la formation accrue d'adduits BP-ADN chez certains ouvriers de cokerie pourrait être associée à un terrain d'activation/inactivation génétiquement contrôlée, qui serait source d'un risque accru de cancer du poumon. Si cela se vérifie dans les études à venir, la formation d'adduits BP-ADN dans les lymphocytes fournira un marqueur utile de (i) l'exposition au BP, (ii) permettra éventuellement d'identifier les individus exposés aux HAP, et particulièrement au BP, prédisposés à former d'adduits BP-ADN et qui (iii) pourraient être ciblés dans le cadre de la prévention ou des programmes de dépistage du cancer du poumon.

References

1. Evrebo, S. et all. Cancer Res. 52 : 1510-1514, 1992
2. Perera, F.P. et all. Nature, 360 : 256-258, 1992
3. Alexandrov, K. et all. Cancer Res. , 52 : 6248-6253, 1992
4. Rojas, M. et all. Carcinogenesis , 15 , 1994 (sous presse)
5. VanSchooten F. et all. J. Natl. Cancer Inst. 82:927-933, 1990