

Conséquences de l'exposition aux faibles débits de dose. Apport de l'expérimentation animale

R. MASSE

(Manuscrit reçu le 2 juin 1989)

RÉSUMÉ L'exposition des animaux de laboratoire aux différents types de rayonnements induit des cancers en relation avec les doses absorbées dans les tissus. La forme des relations dose-effet est très variable. Il est important de distinguer quelles tumeurs sont comparables aux tumeurs humaines. Celles qui présentent le plus d'analogie ne répondent que rarement à la relation classique linéo-quadratique ; néanmoins, une forte atténuation de l'induction est mise en évidence à faible débit de dose. Des relations à quasi-seuil existent après exposition de certains tissus à des rayonnements de fort TLE. Ces constatations mettent en doute la validité de la généralisation de la théorie duale des radiobiologistes, situant l'origine de la relation dose-effet dans l'induction des événements au sein de la molécule d'ADN. Une alternative existe dans les phénomènes de collaborations cellulaires, elle suppose que l'efficacité par unité de dose décroît constamment en fonction inverse du débit.

ABSTRACT The exposure of laboratory animals to the various types of radiations will induce cancers in relation with the tissue absorbed doses. The shape of the dose-effect relationship is most variable. It is important to distinguish which tumours are comparable to human tumours. Those showing more analogies answer but seldom to the classical lineo-quadratic relationship ; however, a strong attenuation of induction is demonstrated at low dose rates. Quasi-threshold relationships are seen after the exposure of some tissues to high-LET radiations. These observations question the validity of generalizing the radiobiologists' dual action theory, setting the origin of the dose-effect relationship in the induction of events within the DNA molecule. There is an alternative in the cellular collaboration events ; it assumes that the effectiveness per dose unit decreases constantly as an inverse function of the dose rate.

Les résultats de l'épidémiologie ne permettent pas de dégager une augmentation globale des cancers dans les groupes professionnellement exposés à de faibles doses et faibles débits de dose, à l'exception des mineurs exposés au radon et aux toxiques de la mine.

Compte tenu des niveaux d'exposition des travailleurs exposés aux États-Unis et en Grande-Bretagne, deux enquêtes, utilisant la méta-analyse, au NRPB et au Battelle Institute de Hanford se sont donné pour objectif de fixer une limite supérieure au risque éventuellement lié à l'exposition professionnelle ; la précision des résultats restera limitée mais

* Commissariat à l'énergie atomique, Direction des sciences du vivant, Département de pathologie et toxicologie expérimentale (DSV/DPTE), BP n° 6, 92265 Fontenay-aux-Roses Cedex.

permettra, vraisemblablement, de conclure que les valeurs de risque attribuées en 1977 ne peuvent sous-estimer de plus d'un facteur 3 à 4 le risque réel (Stather, communication personnelle).

Aucune enquête actuelle ne permet d'évaluer des dommages pour les niveaux de dose habituellement rencontrés dans l'environnement.

La contribution de l'expérimentation animale au problème des faibles doses devrait donc être décisive. Elle est potentiellement justifiée par la précision de la dosimétrie et de l'enregistrement des effets pathologiques, dans des populations génétiquement homogènes et protégées de risques intercurrents. En outre, certaines souches ou espèces animales présentent des réponses témoignant d'une grande sensibilité à l'induction de certains cancers. D'une manière générale, cependant, les populations animales expérimentales sont limitées à quelques centaines. Il est, de ce fait, rarement possible d'éliminer un risque résiduel de l'ordre du %.

LINÉARITÉ, MÉCANISMES, PROBLÈME DU SEUIL

En matière de cancer, la notion de seuil est généralement évoquée lorsqu'apparaît une rupture de pente dans les courbes de relation dose-effet. L'extrapolation, vers les doses faibles, des courbes décrivant les effets observés à doses plus élevées, croise l'axe des abscisses à une valeur significativement différente de zéro, sur une expression graphique en coordonnées linéaires, où la dose est représentée en abscisses et l'excès de cancers en ordonnées.

Le point de vue est surtout pratique car l'incertitude statistique ne permet pas d'exclure la théorie de l'absence de seuil, pas plus que l'extrapolation linéaire possible à zéro ne prouve l'absence de seuil. En fait, la conviction des partisans du seuil ou de leurs opposants s'établit à partir de considérations pratiques ayant trait à la philosophie de la réglementation et à partir des considérations théoriques sur les mécanismes de cancérogenèse. Ces arguments sont valables sans distinction pour tous les cancérogènes génotoxiques.

Il n'existe que très peu de modèles expérimentaux qui établissent le rôle de l'irradiation sans les stades tardifs (ultimes) de la cancérogenèse ; par contre, la plupart des observations mettent en évidence son intervention dans les stades précoces, traduite par la survenue de cancers et de tumeurs bénignes, après des temps de latence nécessairement longs, au moins en l'absence de promoteurs spécifiques. Les tumeurs d'origine mésoenchymateuse, ostéosarcomes et cancers des tissus mous ont des temps de latence relativement courts après irradiation locale continue ; un fort pourcentage de ces tumeurs peut être observé dans la première moitié de la vie du rat.

Étant donné que les stades précoces de la cancérisation sont présumés résulter d'effets aléatoires sur les cibles génétiques, l'absence de seuil est l'hypothèse prévalente. Ce point de vue mérite réflexion : il n'est

pas établi que les lésions génétiques ne soient pas toutes réparées sans erreur après irradiation à très faible débit de dose par des rayonnements à faible transfert linéique d'énergie [1] ; il n'est pas établi que le temps de latence des tumeurs soit indépendant de la dose et du débit de dose, ce qui peut conduire à l'existence de seuils pratiques [16] ; enfin, il n'est pas établi que l'incrément de lésions cellulaires génétiques soit proportionnellement lié à l'expression de cancers matures ; on peut, en effet, imaginer trois situations : 1) il n'existe pas assez de cellules potentiellement cancérisables dans un temps et dans un volume donnés pour conduire à un cancer ; 2) le nombre critique de cellules a été atteint pour cette étape de la cancérisation et l'incrément de nouvelles cellules dans le pool augmente la probabilité d'apparition du cancer ; 3) cette phase de la cancérisation est déjà saturée et ne constitue pas un paramètre significatif de la production de tumeurs (cas possible des tumeurs à haut taux de manifestation "spontanée").

L'hypothèse de linéarité, au plan théorique, est encore plus fragile. Au plan cellulaire, on sait que la cancérisation est un phénomène multi-étapes comprenant des réarrangements chromosomiques précoces (éventuellement des mutations ponctuelles) impliquant, sans doute, des oncogènes, une phase de fixation du caractère acquis dépendant de plusieurs cycles de division cellulaire, vraisemblablement une modification de l'expression de certains gènes, sans doute en rapport avec une hypométhylation de l'ADN, une phase d'instabilité génétique conduisant au gain et à la perte de certains chromosomes ou fragments ayant d'importantes conséquences métaboliques en modifiant les rapports de la cellule et de son environnement, une phase de coopération cellulaire où interviennent des promoteurs et des anti-promoteurs et, sans doute finalement, la perte d'un gène de contrôle assimilé à un anti-oncogène. La probabilité d'une réponse linéaire en fonction de la dose ne peut que résulter d'un excès de simplification ou alors il faut admettre qu'une seule de ces étapes est influencée par l'irradiation, ce qui n'est pas conforme à l'expérience.

Par ailleurs, dans les faits expérimentaux, la relation linéaire, même approchée, demeure un phénomène particulièrement rare.

LA RELATION DOSE-EFFET EN EXPÉRIMENTATION

La spécificité de la radiopathologie expérimentale est la mise en évidence des relations entre la dose et l'excès de cancers avec un minimum d'erreurs sur les paramètres. Cela devrait permettre une bonne définition de la forme de la relation dose-effet. Seules, quelques rares espèces animales, toutefois, permettent cette analyse, car l'expérimentation confirme cette donnée épidémiologique que les tumeurs radio-induites apparaissent à l'âge où elles sont observées spontanément, c'est-à-dire, pour l'essentiel, dans le dernier tiers de la vie de l'espèce considérée. Les rongeurs constituent, de ce fait, la source de renseignements quasi unique, en pratique.

La diversité des relations dose-effet est extrême selon les tumeurs et les lignées considérées. Les tumeurs à forte incidence spontanée fournissent le contingent le plus significatif de relations inattendues. La variabilité est étendue depuis la plus grande sensibilité à l'induction — les tumeurs mammaires du rat Sprague-Dawley [10] — jusqu'à la diminution dose-dépendante de la fréquence spontanée pour toute dose supérieure au gray : réticulo-sarcome de la souris RFM [14] tumeurs de la thyroïde du rat Sprague-Dawley [6]. Ces phénomènes témoignent, bien sûr, de la multiplicité des mécanismes de la radiocancérogénèse.

On conçoit que, dans ces conditions, l'extrapolation à l'homme pose des problèmes difficiles pour l'évaluation d'un risque global, fondé sur le choix d'une relation dose-effet unique. Il est nécessaire de savoir ce qui peut être applicable à l'homme, dans le contexte choisi. Le choix du modèle peut être guidé par l'épidémiologie : il existe une concordance entre l'induction de tumeurs pulmonaires chez les mineurs d'uranium et l'induction de tumeurs pulmonaires par le radon chez le rat Sprague [2] ; une concordance existe entre les tumeurs de la thyroïde de l'homme et du rat Long-Evans [12], bien que ce rat soit spontanément hypothyroïdien ; la leucémie myéloïde peut être modélisée chez la souris RF [18] et CBA [5] ; le chien fournit un modèle possible (avec 5 à 10 ans de latence!) pour les ostéosarcomes induits par les émetteurs alpha [4].

L'expérience animale, pour les cancers significatifs, soutient une forme de relation dose-effet non linéaire. La courbe est souvent assimilée à une fonction linéo-quadratique de la dose, corrigée pour les effets de stérilisation dus à la létalité cellulaire induite. Cette représentation résulte d'un choix théorique, car les résultats excluent rarement une relation quadratique ou polynomiale plus conforme à la complexité naturelle des mécanismes (elle devrait inclure également la composante non linéaire des lois des réactions enzymatiques). Dans un certain nombre de cas, les résultats excluent une relation linéaire : c'est le cas pour l'induction de la leucémie myéloïde de la souris CBA [5] par les rayons X de 250 kV, ou pour l'induction de cancers du poumon par inhalation de PuO_2 chez le rat [10].

RETOUR D'EXPÉRIENCE

Les fonctions non linéaires pour l'induction de cancer chez l'animal sont, dans leur majorité, infralinéaires. Elles indiquent qu'une atténuation importante de l'effet cancérogène est notée par rapport à l'extrapolation des effets obtenus à dose élevée. Ces fonctions complexes témoignent de phénomènes où se combinent des probabilités d'événements dépendantes de la dose. Ce peut être la coopération entre plusieurs sous-lésions dans une cellule et la coopération entre plusieurs cellules dans un tissu. Ce phénomène est, de toutes façons, limité dans l'espace et également dans le temps qui est impliqué dans les différences d'effets liées au débit. Il est d'ailleurs du simple bon sens, pour les irradiations à très faible débit de dose, lorsque la durée d'irradiation est comparable ou supérieure à la latence tumorale, que l'effet soit atténué : soutenir le contraire conduirait à nier la dépendance de l'effet par rapport à la dose

totale délivrée. L'observation expérimentale montre, toutefois (en accord avec l'épidémiologie et le caractère multi-étapes du cancer) qu'une diminution sensible des temps de latence peut être attendue dans les groupes âgés [2], elle est accompagnée d'une diminution du coefficient de risque.

Il est difficile de définir par l'expérimentation la forme réelle de la loi dose-effet pour les faibles doses, pour de simples raisons statistiques. La mesure comparée des effets aux doses supérieures au gray et à débit variable est l'objectif le plus réalisable avec les rayonnements à faible TLE. Dans notre expérience, deux à trois fois moins de cancers ont été observés chez le rat exposé à 3 Gy (gamma de ^{60}Co) au débit de 1,3 mGy/h par rapport au débit de 78 mGy/h [8]. La forme de la courbe à 78 mGy/h ne répond pas à une relation linéo-quadratique.

La mesure de la réduction de l'effet cancérigène à faible débit (doses totales identiques) a fait l'objet d'une publication du NCRP en 1980 [9] utilisée par l'UNSCEAR en 1988. La fourchette de réduction est proposée varier entre 2 et 10. Un facteur déterminant de cette fourchette est la fraction de la durée de vie impliquée dans l'exposition à l'irradiation. Pour les expositions qui impliquent une fraction importante de la durée de vie, celles qui sont sans doute les plus proches de l'exposition du public et des professionnels, le facteur est proche de 10 ou lui est supérieur [9]. Les phénomènes biologiques impliqués dans cette atténuation de l'effet comprennent la diminution de sensibilité à l'induction en fonction de l'âge.

Du fait de l'existence de relations non linéaires, l'atténuation est évidemment dépendante de la dose de référence choisie pour les effets aux forts débits. En fait, très peu de données ont été acquises aux débits inférieurs à 10 mGy par jour. On admet que les débits de dose inférieurs ne nécessitent pas de recherches spécifiques, car l'origine de l'atténuation de l'effet se trouve dans la réparation des lésions induites dans l'ADN. La vitesse de réparation est connue ; au-dessous d'un débit donné, la probabilité de combiner deux sous-événements en un événement cancérigène devient nulle (théorie duale de KELLERER et ROSSI [3]).

Par ailleurs, l'incertitude sur la pente de la relation linéarisée à fort débit est considérable. Bon nombre d'organes ne montrent aucun excès de cancers décelables dans la gamme du gray ou montrent, éventuellement, un taux de cancers inférieur aux témoins ; certains cancers, par contre, ne sont vus en excès qu'à faible dose, sans raison théorique compréhensible. C'est par extrapolation, en utilisant l'incertitude sur la mesure de l'effet, qu'une relation linéarisée peut être obtenue.

Parmi les conclusions importantes pour les faibles doses, l'expérimentation a établi le risque spécifique des rayonnements à fort TLE à fort débit, pour des irradiations homogènes, corps entier ou dans un organe

donné. La relation dose-effet peut être, dans ce cas, assimilée à une relation linéaire, voire supra-linéaire ; en fait, la supra-linéarité reflète essentiellement les effets létaux du rayonnement sur des cellules potentiellement impliquées dans les cancers, pour des doses relativement faibles. Le rapport des doses produisant le même excès de cancers définit l'efficacité biologique (EBR) d'un rayonnement par rapport au rayonnement de référence. L'EBR des neutrons de fission par rapport aux rayonnements de faible TLE est une fonction inverse de la dose ; la mesure d'EBR est un moyen direct, avec un témoin positif, de mesurer l'effondrement des effets d'induction tumorale des rayonnements à faible TLE dans la gamme des faibles doses.

Il est remarquable que l'EBR des neutrons de fission, par rapport aux gamma du cobalt 60, augmente de manière constante lorsque la dose diminue, atteignant, sans diminution de pente, une valeur de plus de 50 au niveau de la dose neutron de l'ordre de 10 mGy [7]. De la même manière, l'EBR des alpha du radium par rapport aux bêta et gamma du strontium croît constamment en rapport inverse jusqu'aux doses de 1 Gy sans montrer de plateau qui devrait traduire une plage de relation linéaire pour les faibles TLE [4]. Ces résultats indiquent soit que le plateau n'existe pas, c'est-à-dire qu'il n'y a pas de composante linéaire avec les faibles TLE, soit que le niveau de dose où il se manifesterait est hors de portée de l'expérimentation et, dans ce cas, les facteurs d'atténuation dus au débit de dose sont très sous-évalués dans le cas de l'exposition naturelle ou professionnelle.

Un autre aspect intéressant des rayonnements à fort TLE est l'existence d'un effet d'atténuation lié au débit. Cette observation est rare. L'exemple caractéristique est le cancer de l'ovaire chez la souris BALB/c [14] qui établit une perte d'efficacité de près d'un facteur 5 entre 250 mGy/min et 10 mGy/jour, dans la gamme de 0,1 à 1 Gy. Les effets létaux cellulaires et le retentissement hormonal thalamo-hypophysaire évoqués pour rendre compte de ce résultat sont peu convaincants au dessous de 0,4 Gy. Une autre explication possible est l'hypothèse paracrine, s'inscrivant dans la perspective de coopérations cellulaires locales qui est, sans doute, un phénomène plus général de la cancérisation.

Enfin, toujours avec les rayonnements à fort TLE, lorsque l'irradiation devient hétérogène, comme c'est toujours le cas avec les émetteurs alpha ingérés ou inhalés, l'induction de cancer obéit apparemment à une relation à seuil, éventuellement compatible avec une relation quadratique sans terme linéaire. Ce fait est mis en évidence en particulier avec $^{239}\text{PuO}_2$ inhalé [10], et cela est bien connu chez l'animal et chez l'homme pour les contaminations du squelette par ^{226}Ra . On ne peut pas expliquer ces résultats avec l'hypothèse simple des sous-lésions, impliquée dans la théorie duale, car la répartition de l'énergie des alpha ne permet pas d'envisager des sous-lésions moléculaires de l'ADN. Le niveau de coopération le plus probable est à rechercher dans le tissu où naissent les tumeurs. Le terme de promotion est quelquefois utilisé pour rendre compte des phénomènes de progression tumorale. Cette notion se heurte au fait que l'irradiation n'a jamais été montrée promoteur des

tumeurs chimo-induites où qu'elles apparaissent. C'est donc à un stade de cancérogenèse au plan cellulaire, autre que le stade ultime de promotion, qu'il faut rechercher la coopération.

CONCLUSIONS

De nombreuses formes de relation dose-effet sont observées pour l'induction de cancers chez l'animal d'expérience. Aucune n'établit de manière satisfaisante qu'une relation linéaire simple décrive les effets cancérogènes en particulier dans la gamme des faibles débits. Selon les tissus, selon le mode d'irradiation, la probabilité d'apparition de la tumeur est influencée de manière variable.

L'intérêt de la relation linéaire, en dehors de la simplicité, est de refléter une théorie microdosimétrique, postulant l'existence de sous-lésions avec les rayonnements à faibles TLE. Dans l'ensemble, cette théorie demeure attractive mais le site réel des sous-lésions demeure mystérieux. L'existence de relations polynomiales avec les rayonnements à fort TLE implique que la sous-lésion peut, en fait, concerner un groupe de cellules dans un tissu et non dans la molécule d'ADN. Compte tenu des multiples étapes potentiellement radiosensibles impliquées dans la cancérisation d'un tissu, cette hypothèse a une certaine vraisemblance. Elle implique que la réponse des tissus à l'agression par les rayonnements à fort TLE soit influencée par le débit, point qu'il faudra établir expérimentalement en irradiation générale, mais qui est tout à fait compatible avec les données de la contamination interne par les émetteurs alpha.

Si la cancérisation nécessite la participation de plusieurs cellules irradiées, la conséquence la plus probable est que l'effet cancérogène diminue de manière constante quand le débit diminue ; dans ce cas, les projections de risques faites aux niveaux de l'irradiation naturelle et professionnelle seraient très surévaluées.

Si, pour des raisons pratiques de fixation des limites d'exposition pour l'homme, des facteurs d'atténuation liés aux faibles débits devraient être choisis, une valeur de 10 serait, sans doute, raisonnable pour les expositions étalées sur une fraction significative de la durée de vie ; pour des délais courts, inférieurs à l'année, la valeur pertinente tirée de l'expérimentation serait, sans doute, voisine de 3 ; il faut simplement rappeler que les niveaux explorés concernent des expositions de l'ordre du gray et n'excluent pas l'absence totale d'effets pour des niveaux plus faibles de plusieurs ordres de grandeur.

BIBLIOGRAPHIE

- [1] BRENNER D.J., ZAIDER M., — Modification of the theory of dual radiation action for attenuated fields. Application to the analysis of soft X rays results. *Radiat. Res.*, 1984, 99, 492-501.
- [2] CHAMEAUD J., PERRAUD R., LAFUMA J., MASSE R. — Cancers induced by radon 222 in the rat. In : *The assessment of radon and daughter exposure and related biological effects*, Rome 1980 (Clemente G.F. et al, Eds). Salt Lake City, Utah : RD Press, 1982, 198-209.

- [3] KELLERER A.M., ROSSI H.H. — The theory of dual radiation action. *Curr. Topics Radiat. Res. Quart.*, 1972, 8, 85-96.
- [4] MAYS C.W., TAYLOR G.N., STEVENS W. et al. — In Bone sarcomas at low doses of alpha irradiation in beagles. COO-119-254, 1979, 9.14.
- [5] MOLE R.H. — Dose response relationships. In : Radiation carcinogenesis, epidemiology and biological implications (Boice J.D. and Fraumeni J.F., Eds.) *Nex York* : Raven press, 1984, 403-420.
- [6] MORIN M., MASSE R., LAFUMA J. — An experimental study of fission neutron carcinogenesis. In : Life span radiation effects in animals : what can they tell us (22. Hanford life sciences symposium, Richland, Sept. 27-29, 1983 (Thompson R.C., Mahafley J.A., Eds.). CONF-83095, 1986, 184-192.
- [7] MORIN M., LAFUMA J. — Les cancers radio-induits du rat. Rapport CEA-R-5462, 1988, et Rev. 1, 1990, 44 p.
- [8] MORIN M. — Effets cancérigènes de l'irradiation gamma à faible débit de dose. *C.R. Acad. Sci.*, 1990 (sous presse).
- [9] NATIONAL COUNCIL ON RADIATION PROTECTION AND MEASUREMENTS (NCRP) — Influence of dose and its distribution in time on dose-response relationships for low LET radiations (NCRP Report 64). Bethesda : NCRP, 1980, 216 p.
- [10] SANDERS C.L. — Low level ²³⁹PuO₂ lifespan inhalation studies. Pacific Northwest laboratory annual report for 1986, PNL-6100 Pt. 1, 1987, 11-15.
- [11] SHELLABARGER C.J., BROWN R.D., RAO A.R. et al. — Rat mammary cocarcinogenesis following neutron or X radiation. In : Biological effects of neutron irradiation, Neuherberg, 22-26 Oct. 1973. Vienna : AIEA, 391-401.
- [12] SHORE R.E., WOODART E., HILDRETH H., et al — Thyroid tumors following thymus irradiation. *J. Natl. Cancer Inst.*, 1985, 74, 1177-1184.
- [13] ULLRICH R.L., STORER J.B. — Influence of gamma irradiation on the development of neoplastic disease in mice. 1. Reticular tissue tumors. *Radiat. Res.*, 1979, 80, 303-316.
- [14] ULLRICH R.L., JERNIGAN M.C., STORER J.B. — Neutron carcinogenesis, dose and dose-rate effects in BALB/c mice. *Radiat. Res.*, 1977, 72, 487-498.
- [15] UNITED NATIONS SCIENTIFIC COMMITTEE ON THE EFFECTS OF ATOMIC RADIATION. (UNSCEAR). — Ionizing radiations sources and biological effects. New York : Nations Unies.
- [16] UNITED NATIONS SCIENTIFIC COMMITTEE ON THE EFFECTS OF ATOMIC RADIATION. (UNSCEAR). — Genetic and somatic effects of ionizing radiation. New York : Nations Unies, 1986.
- [17] UNITED NATIONS SCIENTIFIC COMMITTEE ON THE EFFECTS OF ATOMIC RADIATION (UNSCEAR). Sources, effects and risks of ionizing radiation. New York : Nations Unies, 1988.
- [18] UPTON A.C., JENKINS V.K., WARBURG H.E. et al. — Observation on viral, chemical and radiation induced myeloid and lymphoid leukemia in RF mice. *Natl. Inst. Monogr.*, 1966, 22, 239-347.