

RELATIONS DOSE/EFFET : SURVIE, MUTATION

D. AVERBECK

Institut Curie - Section de Biologie
URA 1292 du CNRS
26 rue d'Ulm, 75231 Paris cedex 05

Dans le but de mieux comprendre les mécanismes à la base des relations existant entre les doses de radiations ionisantes et les effets génétiques radio-induits, il convient de prendre en compte non seulement les doses physiques d'irradiation, mais surtout les dommages primaires engendrés au niveau cellulaire. Sans doute du point de vue des dommages génétiques radio-induits, l'ADN est la cible principale de l'irradiation (Painter, 1980). Parmi de nombreux types de dommages induits dans l'ADN, c'est-à-dire dommages de bases, cassures simple et double brin de l'ADN et pontages ADN/protéines (Hutchinson, 1987 ; Téoule, 1987 ; Von Sonntag, 1991 ; Dizdaroglu, 1992), les cassures double brin (CDB) constituent des lésions d'une importance majeure, car, non réparées, elles sont très probablement à l'origine de la mort cellulaire (léthalité) (Frankenberg-Schwager, 1989 ; Ward, 1990 ; Iliakis, 1991) et impliquées dans l'induction d'aberrations chromosomiques, de mutations et de transformation *in vitro* (Obe et al., 1992).

Par ailleurs, l'homme dans son environnement est normalement exposé aux rayonnements ionisants de faible débit de dose et, beaucoup plus rarement, aux irradiations à fort débit (Latarjet, 1990). Les effets de bas débit de dose d'irradiation ionisante par rapport à ceux de haut débit de dose peuvent avoir une grande importance du point de vue de la radioprotection chez l'homme. Pourtant, les mécanismes impliqués dans ces effets de débits de dose sont encore mal connus (Hall and Brenner, 1991 ; Steel, 1991).

Nous présentons ici un travail du laboratoire visant à mieux comprendre ces effets dans des cellules eucaryotes, c'est-à-dire chez la levure *Saccharomyces cerevisiae* et dans des cellules de mammifères en culture (cellules ovariennes de hamster chinois CHO).

Sachant que les méthodes d'analyse d'induction de CDB par gradient ou élution neutre se sont avérées relativement peu sensibles, nous avons mis en oeuvre, dans notre laboratoire, une nouvelle technique d'électrophorèse en champ pulsé de type CHEF ("Countour Clamped Homogenous Electric Field") (Gunderson and Chu, 1991). Cette technique a permis la détection de cassures double brin dans les chromosomes de levure de taille comprise entre 0,25 et 2,2 Mégabases et de suivre la fragmentation radio-induite de

l'ADN de cellules de mammifères jusqu'à environ 10 Mégabases d'un ADN d'une taille supérieure à 250 Mégabases après des doses d'irradiation γ correspondant aux courbes de survie.

Dans les études sur la levure *Saccharomyces cerevisiae* (Dardalhon et al., 1992), nous avons clairement montré que l'induction de cassures double brin par les rayons γ suivait une fonction linéaire et que la fréquence de cassures radio-induites était deux fois plus faible à un débit de dose de 0,45 Gy/min (bas débit de dose) qu'à un débit de dose de 22 Gy/min (haut débit). L'hypothèse selon laquelle à bas débit de dose une partie des cassures doubles radio-induites sont réparées pendant l'irradiation, a été étayée par des expériences utilisant une souche de levure déficiente dans la réparation des cassures doubles (*rad52/rad52*). Ceci a montré une absence de capacité à réparer les cassures double chaîne après irradiation et incubation post-traitement, aussi bien à bas qu'à haut débit de dose. Les expériences sur la survie cellulaire à faible et haut débits de dose ont confirmé l'existence d'une relation étroite entre l'induction de CDB et la survie (Radford, 1986 ; Frankenberg-Schwager, 1989).

Dans le but d'éclaircir le rôle des CDB radio-induites dans l'ADN dans la radiosensibilité des cellules de mammifères, nous avons entrepris aussi des travaux sur l'induction de CDB par les rayons γ dans différentes conditions d'exposition. Les travaux de Nagasawa et al. (1989) avaient montré l'existence d'un effet net de débit de dose sur la survie de cellules de mammifères, c'est-à-dire une clonogénicité plus grande après irradiation à bas débit par rapport au haut débit de dose. L'étude sur l'induction de CDB par les rayons γ dans les cellules ovariennes de hamster chinois CHO-K1 a effectivement indiqué l'existence d'un effet de débit de dose lié à une réparation des CDB à bas débit à 37°C (Dhermain et al., en préparation). Ces résultats sont d'autant plus intéressants que, d'après certains auteurs, les CDB semblent aussi contribuer à certains effets génétiques, i.e. l'induction d'aberrations chromosomiques et de mutations (Obe et al., 1992).

Remerciements : Ce travail a été effectué en partie grâce au soutien d'un contrat EDF.

Références

- Dardalhon M., Nohturfft A., Meniel V. and Averbeck D. (1992) Repair of γ -ray induced DNA double strand breaks (dsb) in *Saccharomyces cerevisiae* at different dose-rates. A pulsed-field gel electrophoresis analysis. *Int. J. Radiat. Biol.* (submitted).
- Dizdaroglu M. (1992) Measurement of radiation-induced damage to DNA at the molecular level. *Int. J. Radiat. Biol.*, **61**, 175-183.

- Frankenberg-Schwager M. (1989) Review of repair kinetics for DNA damage induced in eukaryotic cells *in vitro* by ionizing radiation. *Radiother. Oncol.*, **14**, 307-320.
- Gunderson K. and Chu G. (1991) Pulsed-field electrophoresis of megabase-sized DNA. *Mol. Cell. Biol.*, **11**, 3348-3354.
- Hall E.J. and Brenner D.J. (1991) The dose rate effect revisited : radiobiological considerations of importance in radiotherapy. *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.*, **21**, 1403-1414.
- Hutchinson F. (1985) Chemical changes induced in DNA by ionizing radiation. *Progress in Nucleic Acids Res. Mol. Biol.*, **32**, 115-154.
- Iliakis G. (1991) The role of DNA double-strand breaks in ionizing radiation-induced killing of eukaryotic cells. *Bio Essays*, **13**, 641-648.
- Latarjet E. (1990) Réflexions sur la radiocancérogénèse. *Radioprotection*, **25**, 385-400.
- Nagasawa H., Chen D.J. and Strniste G.F. (1989) Response of X-ray sensitive CHO mutant cells to γ -radiation. I : Effects of low dose-rates and the process of repair of potentially lethal damage in G1-phase. *Radiat. Res.*, **118**, 559-567.
- Obe G., Johannes C. and Schulte-Frohlinde D. (1992) Review : DNA double-strand breaks induced by sparsely ionizing radiation and endonucleases as critical lesions for cell death, chromosomal aberrations, mutations and oncogenic transformations. *Mutagenesis*, **7**, 3-12.
- Painter R.B. (1980) The role of DNA damage and repair in cell killing induced by ionizing radiation. In : "*Radiation Biology in Cancer Research*", R.E. Meyn and M.R. Withers, Eds., Raven Press, New York, pp. 59-68.
- Radford I.R. (1986) Evidence for a general relationship between the induced level of DNA double-strand breakage and cell killing after X-irradiation of mammalian cells. *Int. J. Radiat. Biol.*, **49**, 611-620.
- Steel G.G. (1991) The ESTRO Breur Lecture, Cellular sensitivity to low dose-rate irradiation focuses the problem of tumour radiosensitive. *Radiother. Oncol.*, **20**, 71-83.
- Téoule R. (1987) Review : Radiation-induced DNA damage and its repair. *Int. J. Radiat. Biol.*, **51**, 573-589.
- Von Sonntag C. (1987) The chemical basis of radiation biology. Taylor and Francis, New York.
- Ward J.F. (1990) The yield of DNA double-strand breaks produced intracellularly by ionizing radiation : a review. *Int. J. Radiat. Biol.*, **57**, 1141-1150.