

EFFETS HÉRÉDITAIRES DES RAYONNEMENTS IONISANTS

Aucun effet héréditaire des rayonnements ionisants n'a été observé jusqu'à présent chez les personnes irradiées. Tout porte à croire qu'il n'y a effectivement pas d'augmentation des pathologies pour lesquelles la transmission à la descendance est systématique (dominante). Les chercheurs se doivent maintenant de déterminer dans quelle mesure ceci est également le cas pour les pathologies à transmission conditionnelle (récessive), qui n'apparaîtraient éventuellement qu'après un certain nombre de générations. Les recherches sur de tels effets, dont l'incidence ne pourrait être qu'extrêmement faible, se justifient ne serait-ce que pour déterminer si certains individus sont plus prédisposés que d'autres à telle ou telle pathologie.



K. Straiton/EXPLORER

● ● ● ● ●
Plusieurs générations d'une famille japonaise. Supposé quasi nul, l'impact exact des mutations récessives ne pourrait être correctement estimé qu'à partir de la cinquième génération après l'événement causal.

Très redoutés après Hiroshima et Nagasaki, les effets héréditaires des **rayonnements ionisants** ne suscitent actuellement qu'un intérêt relativement limité dans la communauté scientifique. La principale raison en est simple : ni les études sur l'animal, ni les enquêtes **épidémiologiques** sur les populations

humaines irradiées n'ont montré d'accroissement sensible des pathologies héréditaires pour des **doses** reçues compatibles avec la survie et la procréation. En effet, au-delà d'un certain niveau de dose, les gonades et les cellules **germinales** sont mises hors d'état d'exercer leur fonction.

Dans la mesure où des effets cancérogènes directs étaient détectés dans les mêmes conditions, les scientifiques se sont légitimement tournés vers l'étude de la transformation cellulaire maligne radio-induite (voir *Cancers radio-induits*).

Il est pourtant utile de revenir aujourd'hui sur la question des effets à long terme, car il n'est pas certain que, dans les conditions où les travaux ont été effectués, il ait été possible de détecter un effet retardé. Les grands progrès de la génétique humaine, en particulier, imposent de reconsidérer des conceptions qui étaient naguère en vigueur et pourraient avoir biaisé l'approche du problème.

Les bases des estimations actuelles

Les estimations qu'il est aujourd'hui possible de faire sur les effets héréditaires des rayonnements ionisants reposent d'une part sur les données des études sur l'animal, d'autre part sur celles de l'épidémiologie.

Les données des études sur l'animal

Telles qu'elles ont été reprises par les principales organisations internationales, comme la Commission internationale de protection radiologique (CIPR) et le Comité scientifique des Nations unies sur les effets des radiations atomiques (Unsclear), les données de l'expérimentation animale proviennent essentiellement de deux laboratoires, l'un à Oak Ridge aux États-Unis et l'autre à Munich en Allemagne, où des expériences très importantes ont été réalisées dans les années cinquante à soixante-dix.

En l'absence d'approche moléculaire, impossible à l'époque, tout a été orienté sur la détection facile d'un **phénotype** anormal. Bien entendu, cela a exclu d'emblée toute altération psychique ou directement liée au vieillissement, alors qu'il est aujourd'hui établi que ces altérations accompagnent très souvent les maladies héréditaires.

Dans les laboratoires d'Oak Ridge, les équipes placées sous la direction de William L. Russell décidèrent d'étudier les malformations squelettiques radio-induites chez la souris, d'abord en raison

de la facilité de leur détection, dès la naissance. À cette époque, les chercheurs pensaient que la quasi totalité des affections héréditaires étaient congénitales⁽¹⁾. La seconde raison ayant guidé ce choix était la notion que ces malformations avaient un déterminisme génétique **dominant**, c'est-à-dire qu'elles résultaient de l'atteinte d'un seul **allèle**, ce qui permettait l'apparition du phénotype dès la première génération. Or, ces deux postulats étaient partiellement faux : il est maintenant prouvé qu'une large fraction des maladies héréditaires n'est pas congénitale. Beaucoup d'altérations squelettiques congénitales observées se sont révélées être plutôt dues à des aberrations chromosomiques, et non à des **mutations** ponctuelles à effet dominant.

La seconde série d'expérimentations importantes fut développée à Munich par le groupe d'Ehling, qui s'est focalisé sur une atteinte oculaire, la cataracte. Le choix de ce phénotype reposait sur les mêmes principes : caractère congénital, trait dominant et détection facile.

Beaucoup d'autres travaux ont bien sûr été réalisés. Ils ne peuvent être mentionnés ici malgré leur intérêt. Dans leur ensemble, les résultats furent donc repris par les diverses commissions internationales qui, après maintes extrapolations, ont déterminé les niveaux de risque. Limitons-nous à reproduire l'estimation du rapport Unsclear de 1977 fixant la dose de doublement des mutations à 1 **gray** (Gy). Vingt ans plus tard, le même organisme conclut qu'à la première génération suivant l'irradiation des parents par 0,01 Gy, un excès d'environ 50 maladies à composante héréditaire serait attendu par million d'habitants, soit une incidence de 0,5 %.

Les données épidémiologiques

Les données épidémiologiques sont de deux types. Il s'agit d'une part de celles qui ont porté sur la descendance d'individus irradiés soit médicalement, soit accidentellement pendant une courte durée - ce qui ne représente heureusement qu'un petit nombre de cas - ou à

la suite des deux bombardements nucléaires. Ce sont donc essentiellement les populations autour d'Hiroshima et de Nagasaki (Japon) qui ont fait l'objet de ces études dont les conclusions sont simples : aucune augmentation de l'incidence des pathologies héréditaires n'est constatée.

D'autres données proviennent d'études qui ont porté sur des populations qui vivent dans des zones à "forte" **radioactivité** ambiante. Notons en passant que ces études ont été très médiatisées lorsqu'une augmentation des pathologies était rapportée, mais que ces mêmes études passaient totalement inaperçues quand elles ne montraient aucune incidence. En fait, il faut reconnaître que, globalement, ces résultats sont contradictoires, et donc peu fiables, car il n'existe ni registre, ni suivi médical approprié dans les zones à forte radioactivité naturelle étudiées.

Les données d'Hiroshima et de Nagasaki constituent donc la seule base sur laquelle s'appuyer pour établir un seuil au-dessous duquel aucun effet héréditaire n'est observé, une notion qui n'a guère de signification.

Pourquoi revenir sur ces estimations ?

Bien qu'encore théoriques, un faisceau de considérations conduisent à réévaluer les estimations actuelles en raison des progrès de la génétique au plan fondamental et de la génétique humaine. Les progrès de cette dernière sont actuellement quasi-exponentiels, comme le montre la figure 1 qui illustre le nombre de **gènes** identifiés et localisés sur les **chromosomes** humains entre 1966 et 1997. Les progrès ont suivi la même évolution chez la souris, le mammifère "modèle" en matière de génétique. Sachant que les grandes expérimentations sur les effets à long terme ont eu lieu avant les années quatre-vingt, il est clair que le manque d'information de l'époque pouvait induire des biais importants. L'un de ces biais ressort d'ailleurs de la figure 1 puisque le nombre de gènes assignés au chromosome X a été seulement multiplié par 4 entre les années 1960 et 1997 alors que celui des gènes assignés aux

(1) Qui apparaît dès la naissance.

autosomes est passé de 0 à environ 4 000 ! Les grandes expériences sur lesquelles repose l'évaluation du risque génétique ont donc été réalisées alors que la génétique des mammifères était balbutiante, ce qui conduit à penser que beaucoup de leurs conclusions sont à réviser.

Les progrès de la génétique fondamentale sont tout aussi déterminants. Les mécanismes impliqués dans l'hérédité des mammifères n'ont commencé à être entrevus qu'avec le développement de la biologie moléculaire, notamment à partir des années quatre-vingt. Comment telle altération de la molécule d'**ADN** va retentir sur tel phénotype mérite d'être réexaminé à la lumière des acquis les plus récents. La notion simple de **dominance** (un allèle touché, un effet) et de **récessivité** (deux allèles touchés, un effet) a beaucoup évolué avec le temps, puisqu'elle dépend de la puissance des moyens d'analyse mis en œuvre. D'abord très formelle, cette notion a perdu de son importance dans les années soixante à soixante-dix avec les progrès de la biochimie qui ont permis de détecter des effets de *dosage génique*, et donc des niveaux intermédiaires entre récessivité et dominance strictes.

C'est avec les progrès en **oncologie**

moléculaire que cette notion a repris de son intérêt. Un trait de caractère, comme la prédisposition héréditaire au cancer, peut apparaître comme dominant parce qu'il se manifeste chez des individus **hétérozygotes**, c'est-à-dire porteurs d'un seul allèle altéré, alors qu'il est récessif à l'échelle cellulaire, car le second allèle est muté ou perdu dans les cellules cancéreuses. Ce processus à deux temps, dont l'un survient au cours du vieillissement de l'individu, montre combien la notion selon laquelle les affectations héréditaires sont congénitales était restrictive.

Les altérations de l'ADN induites et les conséquences qui en découlent mériteraient aussi un long développement. Cinq types d'altérations peuvent être citées. Ce sont d'abord les lésions non **transcrites**, qui se traduisent par un simple polymorphisme de l'ADN, et les lésions transcrites, qui entraînent une variation du phénotype sans caractère pathologique. Il s'agit ensuite des lésions supprimant la fonction de l'allèle touché, sans effet si l'autre allèle compense (effet récessif), ou qui montrent un effet de "dosage génique" (effet dominant). Certaines lésions changent le sens du message, au point que le produit de l'allèle muté entre en compétition avec l'allèle normal restant (effet dominant négatif).

Enfin, des lésions peuvent être étendues à plusieurs gènes, "**délétés**" ou dupliqués, rejoignant ainsi les altérations à l'échelle chromosomique (effet dominant).

Pour des raisons évidentes, les mutations dominantes sont aisément reconnues puisqu'elles sont repérées dès la première génération par l'effet qu'elles provoquent, contrairement aux récessives. Ceci entraîne une distorsion considérable de la connaissance des altérations de l'ADN. Ainsi, dans le catalogue du Dr. Victor A. Mc Kusick de la John Hopkins University (1998), aux États-Unis, les traits autosomiques dominants identifiés dans notre espèce sont trois fois plus nombreux que les récessifs, alors que cette proposition est inversée pour les traits liés au chromosome X. La raison en est que les mutations récessives ne sont facilement repérées que si elles sont portées par le chromosome X, puisqu'elles se manifestent chez l'homme, qui ne possède qu'un seul X (pathologie liée au sexe). Des milliers de maladies autosomiques récessives resteraient ainsi encore non identifiées. Cette difficulté peut jouer un rôle très important dans l'évaluation du risque génétique lié aux rayonnements, comme nous le verrons plus loin.

Il existe une autre inconnue, au moins aussi importante. Après exposition aux

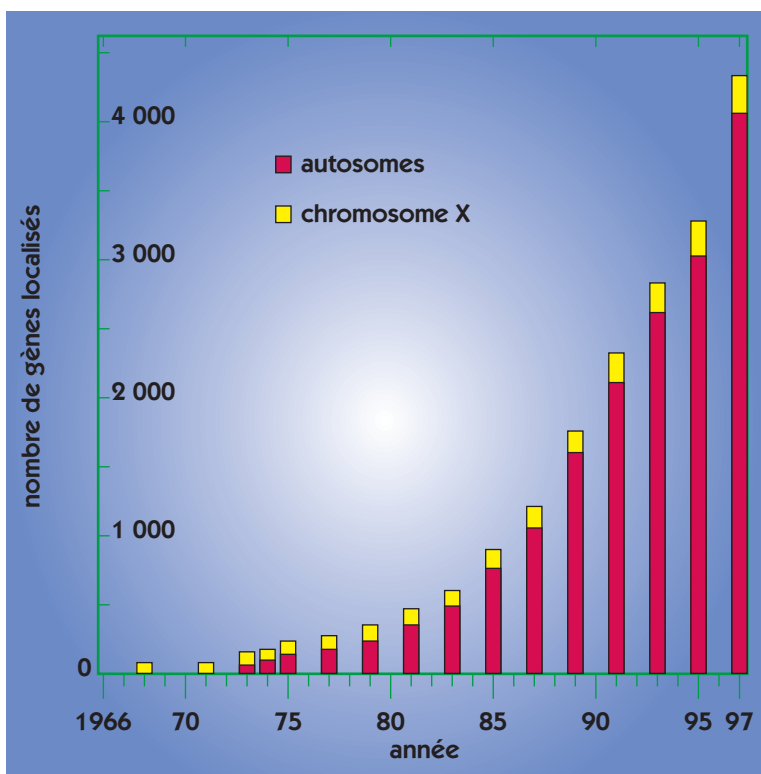
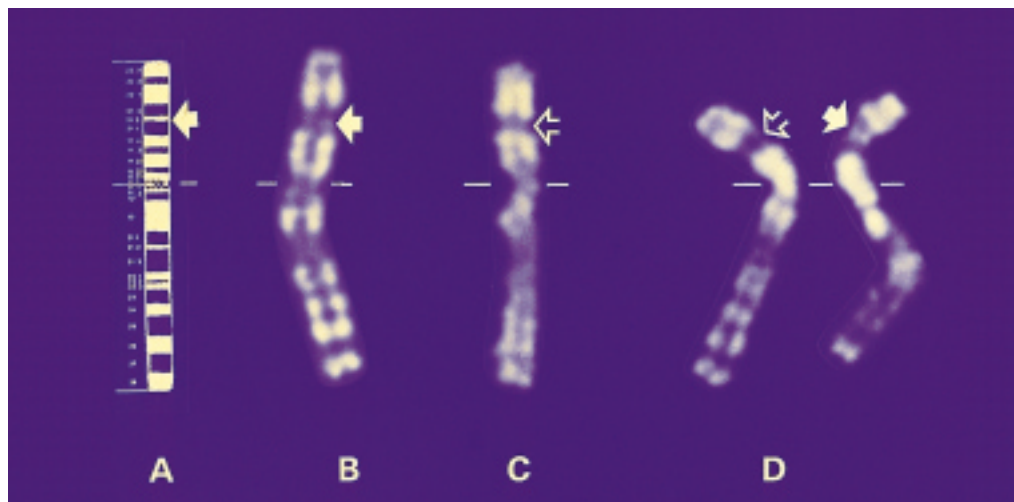


Figure 1. Évolution du nombre de gènes localisés sur les chromosomes humains au cours des trente dernières années (d'après Victor A. Mc Kusick, *Mendelian Inheritance in Man*, 12^e édition).

Emplacement sur le chromosome X du gène DMD responsable de la myopathie de Duchenne. En A, schéma d'un chromosome X normal ; en B chromosome X normal ; en C chromosome X avec délétion touchant le gène DMD chez un garçon malade ; en D chromosomes X de la mère transmetteur sain et dont l'un a subi une délétion.



UMR 147 CNRS/INSTITUT CURIE

rayonnements, comme à tout **mutagène**, les proportions respectives des lésions à effet récessif et celles à effet dominant ne sont toujours pas connues. Puisque la perte de fonction d'un allèle (mutation récessive) ne nécessite pas de grande spécificité (créer une panne dans un système intégré est aisé alors que modifier la fonction (mutation dominante) nécessite un ciblage plus précis), on peut s'attendre à ce que la grande majorité des mutations soient récessives. Quelques données expérimentales vont en effet dans ce sens, mais leurs résultats sont malheureusement biaisés par les approches utilisées. Il est également établi que dans les cellules cancéreuses, les mutations observées sont très souvent récessives, entraînant des pertes de fonction. Il faut enfin savoir qu'une mutation récessive en une seule copie reste neutre. Elle ne sera donc pas contre-sélectionnée et pourra être facilement transmise.

À partir de la cinquième génération ?

Ainsi, quelle serait la validité des études sur les descendants des irradiés d'Hiroshima et de Nagasaki si, comme il serait légitime de le supposer, les mutations induites étaient, en grande majorité, récessives ? L'arbre généalogique de la figure 2 montre qu'aucune conclusion ne peut encore être tirée aujourd'hui sur les mutations récessives. Aucun effet ne serait attendu en première génération (génération de 1946 à 1966). Des hétérozygotes, porteurs de mutations variées, différentes les unes

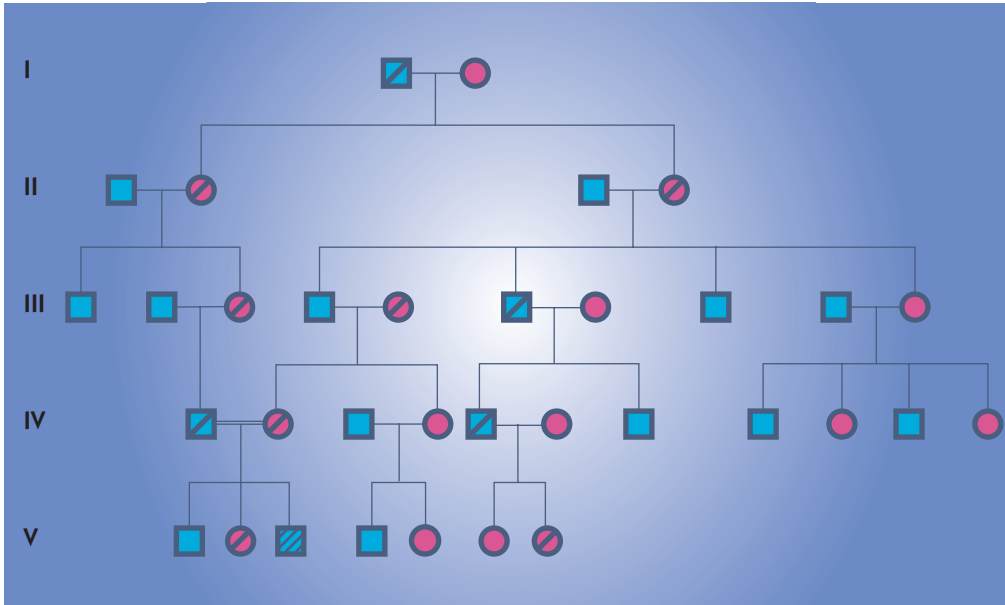
des autres puisque quelque 100 000 gènes pourraient être indifféremment touchés, n'en existeraient pas moins. Chacun d'entre eux serait en mesure de transmettre, une fois sur deux, sa mutation. La même mutation serait alors susceptible de se rencontrer dans les fratries (deuxième génération, de 1966 à 1986). L'union frère-sœur étant rarissime, la troisième génération (1986-2006) n'a aucune chance de comprendre des individus porteurs **homozygotes** de la mutation. L'union entre cousins germains, déconseillée, étant très peu fréquente, le taux d'homozygotes restera très rare en quatrième génération (2006-2026). Le tabou de l'inceste n'étant plus de mise à ce stade, c'est à la cinquième génération (2026-2046) qu'une conséquence perceptible pourrait être attendue. Il est donc totalement prématuré de conclure à l'absence d'effet sur les pathologies héréditaires dans ces populations. Tout ce qu'il est en revanche possible d'assurer, c'est qu'il n'y a pas eu d'augmentation des pathologies à transmission dominante.

Aujourd'hui, quelques travaux donnent une large place à la recherche des mutations à l'échelle moléculaire. Ils remettent discrètement en cause les évaluations anciennes. Il ne faut certainement pas s'attendre à ce que le risque génétique soit très élevé, mais il serait irresponsable d'ignorer purement et simplement ce risque. Fort heureusement pour la descendance, la stérilisation des gonades, conséquence immédiate des fortes irradiations, limite le risque génétique. Par contre, toute augmentation chronique peut avoir une conséquence,

sans que celle-ci ne ressorte des enquêtes épidémiologiques, car ces études n'ont pas la puissance suffisante pour détecter des événements rares au sein de populations, surtout lorsqu'elles sont peu médicalisées. Elles n'ont en particulier aucune valeur prédictive.

Les moyens de la biologie moléculaire sont en progression rapide. Détecter une mutation est devenu banal dans un contexte génétique défini. Cela deviendra également banal à l'échelle de tout le génome lorsque les systèmes d'analyse globale (puces à ADN) seront opérationnels (encadré). Il était donc légitime que se développent au Commissariat à l'énergie atomique (CEA), dans le domaine de la recherche en radiobiologie, un service d'analyse génomique fonctionnelle et un laboratoire d'étude de la radiosensibilité des cellules germinales. À une époque où l'opinion se préoccupe de la gestion des déchets nucléaires et des effets possibles d'une faible augmentation de l'exposition chronique aux rayonnements ionisants, il s'agit d'éviter de constater sans la comprendre une éventuelle augmentation du taux des mutations récessives.

Bernard Dutrillaux
Département de radiobiologie
et de radiopathologie
Direction des sciences du vivant
CEA/Fontenay-aux-Roses



● ● ● ● ●
Figure 2. Arbre généalogique théorique figurant la transmission d'une mutation récessive acquise dans les gonades d'un parent de l'homme de la génération I.
 Carré : homme ; cercle : femme ; trait oblique : porteur sain de la mutation ; grisé : homozygote atteint ; double trait horizontal : union consanguine entre cousins issus de cousins germains.

Les prouesses des puces à ADN

L'outil le plus récent pour analyser globalement l'expression génétique est la puce à ADN. Elle est capable d'identifier en une seule opération des centaines et bientôt des milliers ou dizaines de milliers d'échantillons d'ADN.

Sur un support de verre traité ou de silicium, comparable à celui utilisé dans la fabrication des puces électroniques, sont déposés des fragments d'ADN (succession de **bases A, T, G, C**) spécifiques du génome d'une espèce (**oligonucléotides** synthétiques ou séquences d'ADN amplifiées par la technique de réaction de polymérisation en chaîne, PCR). Ces brins "sonde" constituent des sites d'hybridation qui seront reconnus, selon le principe même de la double hélice (encadré A, **La molécule d'ADN, vecteur de l'hérédité**), par les ADN "cible" cellulaires (succession des bases complémentaires : T, A, C et G), s'ils sont présents dans l'échantillon étudié. Pour analyser un échantillon biologique, il est nécessaire de préparer les cibles, de

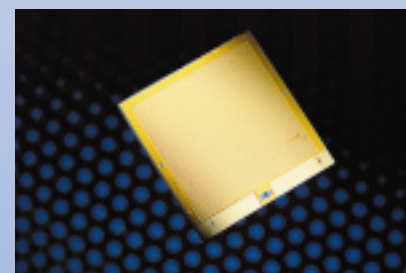
les marquer à l'aide d'une molécule fluorescente, et finalement de les mettre à "hybrider" sur la puce à ADN. Ainsi, en repérant puis en quantifiant le signal fluorescent sur chaque ADN sonde déposé sur la puce, l'état des cellules est caractérisé en une étape dans l'échantillon étudié, la globalité de l'analyse dépendant du nombre de sondes déposées sur la puce.

En radiobiologie, dans le domaine de l'évaluation des effets de l'irradiation, les *méthodes d'analyse globale* utilisant de telles puces permettront de mettre en évidence les mutations génétiques radio-induites. Elles serviront aussi à étudier les réponses cellulaires au *stress*, à caractériser les effets précoces de l'irradiation, à distinguer des marqueurs de radiosensibilité et à progresser dans la compréhension des relations doses-effets.

Le programme Biopuces du CEA vise maintenant à développer des puces comprenant jusqu'à 100 000 sites d'hybridation, contre 128 dans les premières biopuces, conçues avec Cis bio

International. Différentes directions du CEA y participent, essentiellement la Direction des sciences du vivant et la Direction des technologies avancées par le biais du Laboratoire d'électronique, de technologie et d'instrumentation, le Leti. Le CEA a élargi en 1998 le cercle de ses partenaires industriels en s'associant, par exemple, avec bioMérieux, spécialiste des produits de diagnostic médical.

Biopuce, développée dans le cadre du programme Micam, de haute densité à 8 100 sites d'hybridation.



CEA/Studio Pons