



---

---

# Table des matières

## **Chapitre I: Notion sur la toxicologie génétique**

1- Introduction .....	1
2- Molécules xénobiotiques .....	3
3- Etapes de la transformation des molécules xénobiotiques .....	3
3.1-Toxico-cinétique .....	4
3.1.1- Absorption .....	4
3.1.2- Distribution .....	5
3.3.3- Biotransformation (métabolisme) .....	5
A- Réaction de phase I .....	6
B- Réaction de phase II .....	7
3.3.4- Excrétion .....	8
3.2- Toxico-dynamique .....	8
3.2.1- Fixation aux différents récepteurs .....	8

## **Chapitre II: Mécanismes moléculaires de la génotoxicité**

1- Agents génotoxiques (notion de mutagènes) .....	11
2- Agents mutagènes et nature des dommages de l'ADN .....	12
2.2- Les adduits encombrants .....	13
2.3- Les micro-adduits .....	13
2.4- Les lésions oxydatives de l'ADN .....	14
2.5- Les mutations ponctuelles .....	14
2.6- Les pontages d'ADN .....	15
3- Test de génotoxicité .....	16
3.1- Test de Ames .....	17
3.2- Tests de mutations ponctuelles .....	17
3.2.1- Test de mutation du locus de l'hypoxanthine-guanine phosphoribosyltransferase (HPRT) .....	18
3.2.2- Test de mutation du gène de la glycophorine A .....	18
3.2.3- Test de mutation ponctuelle au locus TK (thymidine kinase) .....	19
3.3- Test des comètes .....	19
3.4- Test des micronoyaux .....	20
3.5- SOS chromotest .....	21

---

---

## **Chapitre III: Systèmes de réparation de l'ADN**

1- Les différents systèmes de réparation de l'ADN .....	22
1.1- Réparation directe (DR).....	23
1.2- Mécanismes de la réparation par excision de nucléotide (NER) .....	23
1.2.1- Réparation globale du génome .....	24
1.2.2- Réparation couplée à la transcription .....	24
1.2.3- Mécanisme de réparation des cassures double brin par recombinaison homologue (DSB repair) .....	26
1.2.4- Synthèse translésionnelle .....	27
1.2.5- Réparation de mésappariements .....	29
2- Conséquences des dommages de l'ADN .....	31
2.1- Relation mutation-cancer .....	32
2.2- Théories du développement du cancer .....	33
2.2.1- Initiation .....	34
2.2.2- Promotion .....	34
2.2.3- Progression .....	35
2.3- Les maladies de réparation de l'ADN .....	36

## **Chapitre IV: pharmacogénétique**

1- Définition .....	38
2- Polymorphisme génétique .....	39
3- Polymorphismes pharmacogénétiques .....	39
4- Bases moléculaires du polymorphisme pharmacogénétique .....	40
5- Détection des polymorphismes pharmacogénétiques .....	41
5.1- Le phénotypage .....	41
5.2- Le génotypage .....	42
6-Exemples de polymorphismes pharmacogénétiques .....	43
6.1- Polymorphisme génétique des cytochromes P450 .....	43
6.1.1- Le Polymorphisme génétique CYP 450 2D6 .....	44
6.2- Polymorphisme de la thiopurinéméthyltransférase (TPMT) .....	45

---

---

## Chapitre V: Agents tératogènes et embryotoxicologie

1- Introduction .....	47
2- Périodes de vulnérabilité aux agents tératogènes.....	47
2.1- Phase préimplantatoire ou segmentaire et loi du « tout ou rien » .....	47
2.2- Phase embryonnaire et risque tératogène .....	48
2.3- Phase fœtale et risque foetotoxique .....	48
3- Les différents types de malformations .....	49
4- Différents agents tératogènes .....	50
4.1- Les agents physiques .....	50
4.1.1- Les radiations ionisantes .....	50
4.1.2- Ultrasons .....	50
4.1.3- Hyperthermie .....	50
4.2- Les médicaments, hormones et produits chimiques .....	50
4.2.1- Les tératogènes puissants .....	51
4.2.2- Les tératogènes peu puissants .....	51
4.2.3- La vitamine A et l'acide rétinoïque .....	52
4.2.4- Le diéthylstilbestrol .....	53
4.2.5- Les antibiotiques .....	53
4.2.6- Les drogues .....	53
4.3- Métaux lourds .....	53
4.3.1- Le plomb .....	53
4.3.2- Le mercure et le méthyle mercure .....	53
4.4- Les agents infectieux viraux .....	54
4.4.1- Le virus de la rubéole .....	54
4.4.2- Cytomégalovirus .....	54
4.4.3- Herpès simplex .....	54
4.4.4- Virus de la varicelle et du zona .....	55
4.5- Les agents infectieux non viraux .....	55
4.5.1- La toxoplasmose .....	55
4.5.2- La syphilis congénitale .....	55

### Bibliographie

---

## **Engagement**

Je soussignée, Dr. FERROUDJ Sana, Maître de Conférences classe B, au sein de la Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie de l'Université Abbès Laghrour de Khenchela , atteste sur l'honneur que le travail intitulé « Polycopie de cours de la matière : "Toxicogénétique " , qui est destiné aux étudiants de Master II Génétique , est le fruit de mes efforts, que ce document est personnel, et cite en références toutes les sources utilisées.

Fait pour servir et valoir ce que de droit

---

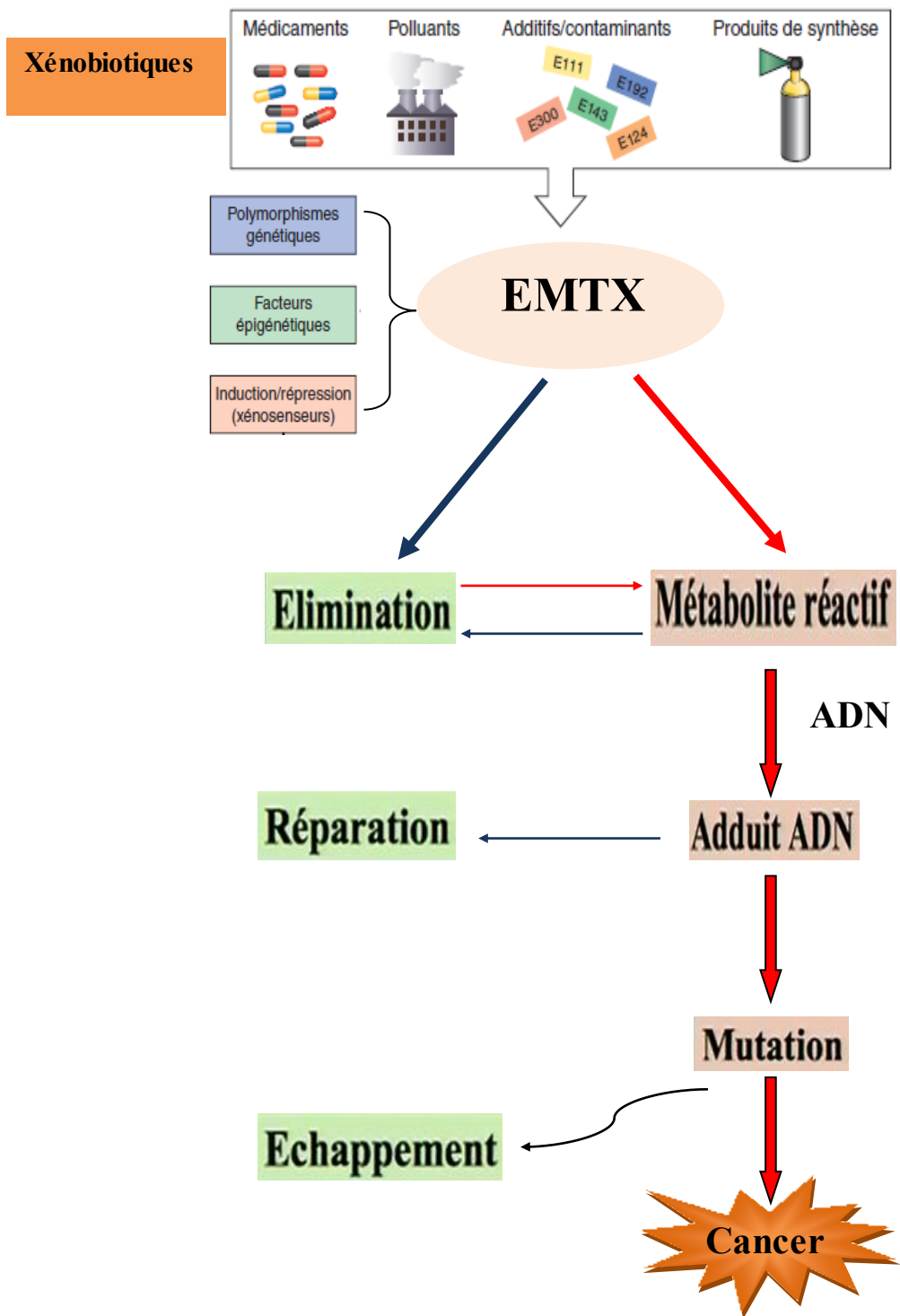
## ***Chapitre I: Notion sur la toxicologie génétique***

### **Introduction**

Dans le cadre des relations santé - environnement, le domaine de la toxicologie génétique s'est révélé être essentiel puisque la détermination des facteurs environnementaux susceptibles d'interagir, directement ou non, avec le patrimoine génétique des cellules s'inscrit désormais dans la prévention des risques cancérigènes et de la toxicité vis-à-vis de la reproduction.

L'homme est constamment exposé à des molécules toxiques présentes dans l'environnement désignées sous le terme général de xénobiotiques. Ces molécules peuvent pénétrer passivement ou grâce à des transporteurs dans les cellules. Leur accumulation dans les cellules est néfaste pour l'organisme. L'organisme humain est doté de systèmes multienzymatiques complexes qui permettent une grande adaptabilité à des structures très variées et à priori inconnues afin de pouvoir les éliminer dans les fluides biologiques. Le métabolisme des xénobiotiques, et notamment des polluants environnementaux, peut entraîner la formation de métabolites très toxiques ou réactifs. Du fait de leurs propriétés électrophiles, ils peuvent se lier de manière covalente aux macromolécules cellulaires nucléophiles et provoquer des réactions toxiques : leur liaison à l'acide désoxyribonucléique (ADN) peut entraîner des mutations qui, en l'absence de réparation fidèle, peuvent initier un cancer. Ainsi, la génotoxicologie, qui a pour objet l'identification des agents génotoxiques, la détermination des mécanismes moléculaires et cellulaires impliqués dans les phases de bioactivation, d'interaction avec l'ADN, de réparation des lésions primaires, et l'évaluation des conséquences initiales des dites lésions, a développé un certain nombre de tests de génotoxicité permettant de déceler les différentes lésions.

D'autre part, les variations interindividuelles dans l'activité de ces systèmes enzymatiques sont très importantes et dépendent de plusieurs facteurs : génétiques, épigénétiques, environnementaux ou physiopathologiques (jeûne, diabète, hépatites, cirrhoses, cancers, etc.). Cette variabilité a des conséquences pharmacotoxicologiques. D'une part, les variations du métabolisme peuvent entraîner des anomalies de réponse aux médicaments : la pharmacogénétique s'intéresse à l'influence des séquences de l'ADN sur l'efficacité et la toxicité des médicaments afin de développer des tests simples permettant de prédire la réponse des individus à certains traitements.



Concept de la toxico-génétique

---

## 2- Molécules xénobiotiques

Les xénobiotiques, du grec *xenos* (étranger) et *bios*(vie), sont des molécules de faible masse moléculaire (<1000Da) étrangères à l'organisme. Il s'agit par exemple des médicaments, des polluants de l'eau ou de l'atmosphère, des additifs alimentaires mais également de certains composés naturels des aliments. Durant toute sa vie, l'homme est constamment exposé, bien souvent à son insu, à ces composés et doit être capable de faire face à certaines de leurs propriétés potentiellement délétères, telles que l'hydrophobie, qui ne permet pas leur élimination de l'organisme ou leur réactivité chimique avec certains constituants cellulaires.

Les xénobiotiques sont donc d'importants polluants et contaminants, résistant à la biodégradation et s'accumulant dans les sols, l'eau et les organismes. Il existe une infinité de xénobiotiques différents classés, on fonction de leur nature, en des:

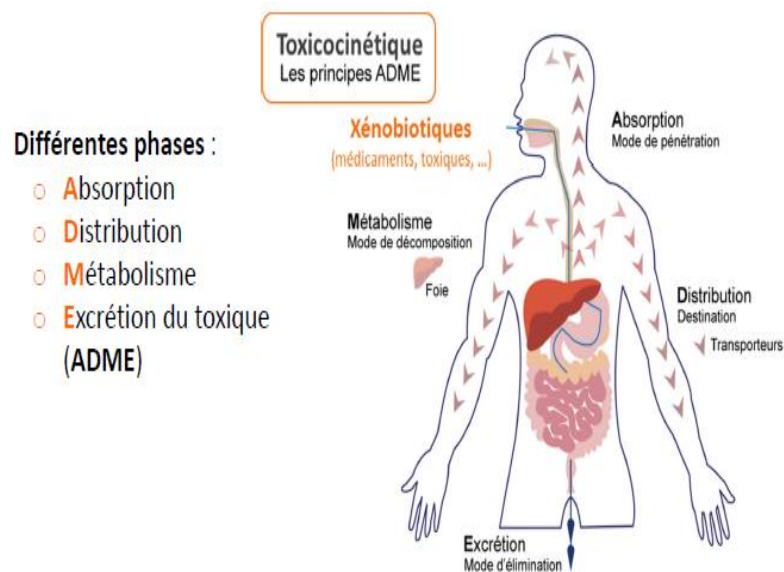
- **Agents Physiques:** Rayonnements ionisants; UV; rayonnements électromagnétiques, température.
- **Agents biologiques:** virus, bactéries, parasites, champignons.
- **Agents classés par familles chimiques:**
  - Hydrocarbures aromatiques polycycliques (Benzopyrène).
  - Benzène.
  - Organochlorés et organobromés (pesticides, dioxine, PCB, polybromés).
  - Amines hétérocycliques aromatiques (viandes et poissons bien cuits, huile de cuisson).
  - Organophosphorés (sarin, chlorpyrifos).
  - Fibres: amiante.
  - Métaux lourds.
  - Additifs alimentaires et auxiliaires technologiques (colorants, édulcorants, conservateurs, exhausteurs de gout).
  - Médicaments.

## 3- Etapes de transformation des molécules xénobiotiques

L'inhalation ou l'ingurgitation de xénobiotiques, même en petites quantités, sont très dangereuses pour la santé à moyen et long termes. Après pénétration dans l'organisme, les xénobiotiques subissent une transformation qui permettrait leur élimination. Si la grande majorité des xénobiotiques est éliminée, des métabolites réactifs peuvent être formés.

### 3.1- Toxicocinétique

La toxicocinétique étudie le devenir des xénobiotiques dans l'organisme. Elle renseigne sur la façon avec laquelle l'organisme agit sur une substance par l'intermédiaire des processus d'absorption, de distribution, de biotransformation (métabolisme) et d'excrétion « ADME ». Elle permet de déterminer la quantité de substance toxique susceptible d'atteindre sa cible et de préciser sous quelle forme (composé initial ou métabolites) elle y parvient.



#### *Devenir d'un xénobiotique*

##### 3.1.1- Absorption

Cette étape correspond au passage du xénobiotique depuis son site d'administration jusqu'au compartiment central. Celui-ci est défini comme l'espace à partir duquel le xénobiotique peut être échangé avec les différents compartiments de stockage (graisse, phanères...), de métabolisme (foie, poumon...) et d'élimination (rein, poumon, glandes sudorales...). En pratique physiologique, on considère que le compartiment central est le sang puisque la circulation sanguine générale assure les échanges avec tous les organes.

L'étape de résorption concerne toutes les voies d'administration (voie orale, cutanée, sous-cutanée, rectale, pulmonaire...), sauf la voie intraveineuse où le principe actif est directement introduit dans le compartiment central. L'entrée des xénobiotiques dans la cellule peut être passive, les xénobiotiques, souvent lipophiles, étant capables de traverser la membrane plasmique, ou facilitée par des transporteurs. Les principaux transporteurs d'influx sont les *solute-linked carriers* (SLC). Il y en a environ 300, répartis en 43 familles. Ils sont

---

principalement présents dans les organes directement exposés aux xénobiotiques (intestins, poumons, etc.). Il faut noter que ces mêmes transporteurs sont capables de limiter la pénétration des xénobiotiques par leur localisation sur les barrières épithéliales (intestin, placenta, barrière hématoencéphalique) de l'organisme.

### **3.1.2- Distribution**

La distribution d'une substance dans l'organisme est un processus dynamique dépendant des vitesses de captation tissulaire et d'élimination, du flux sanguin vers les différents tissus et de l'affinité de ces derniers pour la substance. Les petites molécules hydrosolubles, non ionisées, les cations monovalents et la plupart des anions diffusent facilement et finissent par se répartir de façon relativement régulière dans l'organisme.

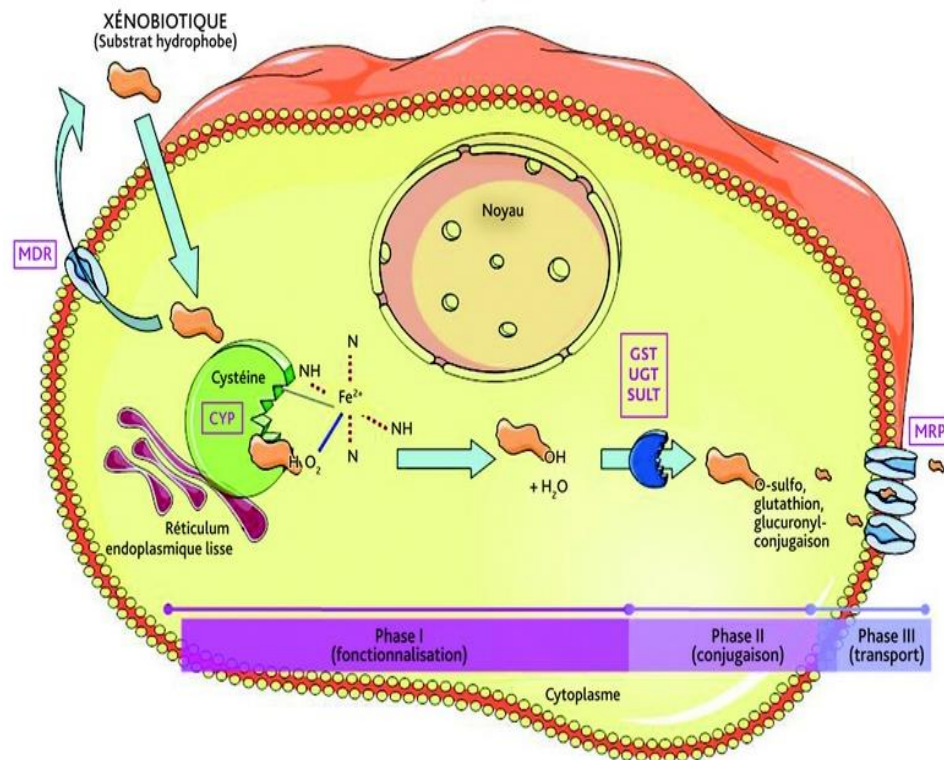
### **3.3.3- Biotransformation (métabolisme)**

L'étape de métabolisme appelée également effet de premier passage comprend l'ensemble des modifications de la structure chimique (biotransformation essentiellement enzymatique) que vont subir la plupart des xénobiotiques, par l'intermédiaire des enzymes du métabolisme et des transporteurs des xénobiotiques (EMTX), conduisant à la formation de métabolites plus polaires donc plus hydrosolubles, de poids moléculaire plus élevé, plus facilement éliminables par l'organisme.

De nombreux tissus (poumon, rein, intestin...) peuvent réaliser ces transformations mais l'organe le plus actif est le foie. En effet, les hépatocytes renferment un système enzymatique, le cytochrome P450 (CYP), composé d'une superfamille d'isoenzymes à fer impliquées dans la transformation des médicaments.

La phase de métabolisme sera fréquemment influencée de manière interindividuelle selon le sexe et l'âge des patients, les polymorphismes génétiques ou l'existence de pathologie.

Schématiquement, on distingue deux étapes dans le métabolisme : les réactions de phase I (ou réactions de fonctionnalisation) et celles de phase II (ou réactions de conjugaison). Ces réactions peuvent être couplées. Dans ce cas, la phase de fonctionnalisation produit des métabolites qui subiront dans un deuxième temps, une réaction de conjugaison.



*Différentes phases du métabolisme des xénobiotiques dans la cellule.*

### *A- Réaction de phase I*

Trois types de réaction sont possibles: oxydation, réduction et hydrolyse. Les réactions d'oxydation, les plus importantes, font intervenir principalement un groupe d'enzymes appelées «mono-oxygénases à fonction mixte» (incluant le cytochrome P-450 et la NADPHcytochrome- P-450 réductase) situées dans le réticulum endoplasmique lequel, lorsque isolé en laboratoire, est désigné sous l'appellation de microsomes. On parle alors d'oxydations microsomiques. Il existe plusieurs formes de cytochromes P-450 (isoformes CYP2E1, CYP1A2). Chacune de ces isoformes possède une affinité pour des substrats ou des familles de substrats particuliers. D'autres enzymes, également impliquées dans des réactions d'oxydation, sont présentes dans les mitochondries ou dans le cytosol. Les principales enzymes impliquées dans les réaction d'oxydation de phase I sont, en plus des monooxygénases à fonction mixte, les monooxygénases (indépendantes du P-450) faisant intervenir la flavine, les monoamine-oxydases, les déshydrogénases des alcools et des aldéhydes, et les peroxydases. Les réactions de réduction, moins fréquentes, présentent moins d'intérêts que les précédentes sur le plan toxicologique. Finalement, certains xénobiotiques (esters, amides) subissent des réactions d'hydrolyse qui ont pour résultat d'introduire des groupes fonctionnels polaires (-OH, -SH, -COOH) augmentant ainsi la polarité globale des molécules. Les enzymes (microsomiques ou cytosoliques) qui assurent ces réactions d'hydrolyse sont de deux types: 1) les hydrolases des époxydes lesquelles, par exemple,

transforment le benzo(a)pyrène 7-8 époxyde en benzo(a)pyrène trans- 7-8-dihydrodiol, et 2) les carboxylestérases et les amidases, qui jouent un rôle plus important dans le métabolisme de certains médicaments.

### ***B- Réaction de phase II***

Les réactions de phase II confèrent également un caractère hydrosoluble aux molécules et facilitent d'autant leur excrétion, sauf pour les réactions d'acétylation et de méthylation. Les réactions de phase II ont souvent comme substrat un produit de biotransformation de la phase I. Cependant, certains produits peuvent être directement impliqués dans une réaction de phase II. Ces réactions produisent des conjugués suite au couplage entre un xénobiotique (ou un métabolite) et un produit endogène, déjà présent dans l'organisme. Les réactions de phase II sont la glucuronoconjugaison (glucuronyltransférase), la sulfoconjugaison (sulfotransférase), la conjugaison avec le glutathion (glutathion transférase), la conjugaison avec des acides aminés (acyltransférase), l'acétylation (N-acétyltransférase) et la méthylation (N ou O-méthyltransférase).

Une fois conjugués, les métabolites produits sont expulsés par des transporteurs d'efflux : les ABC transporteurs (*ATP-binding cassette*). Ce sont des transporteurs actifs utilisant l'énergie de l'hydrolyse de l'ATP pour transporter les substrats à travers la membrane cellulaire. Il existe environ 50 transporteurs ABC différents chez l'homme répartis en sept familles. Ces transporteurs ont également un rôle très important dans la limitation de l'entrée ou la distribution dans l'organisme des xénobiotiques (protection des organes sensibles) ou encore sont responsables du transport de certains toxiques environnementaux comme les pesticides.

#### ***Principales enzymes de phase II impliquées dans le métabolisme des xénobiotiques, ainsi que les cofacteurs associés, et leur localisation***

<b>Enzyme</b>	<b>Type de réaction</b>	<b>Cofacteur</b>	<b>Localisation</b>
<b>UGT (UDP-glucuronosyltransférases)</b>	Glucuronidation	UDP-glucuronique-acide	Foie, reins, poumons, peau, prostate, cerveau
<b>SULT (sulfotransférases)</b>	Sulfatation	3-phosphate adénosine-5'-phosphosulfate	Foie, reins, intestins
<b>GST (glutathion-S-transférases)</b>	Conjugaison au glutathion	glutathion	Foie, reins, surrénale, pancréas, cerveau, placenta, intestins grêle, rate, prostate, muscle squelettique, moelle osseuse, plaquettes, leucocytes.
<b>NAT (N-acétyl-transférases)</b>	Acétylation	Acétylcoenzyme A	Foie, poumons, rate, estomac, globules rouges, lymphocytes
<b>MT (méthyl-transférases)</b>	Méthylation	Acide UDP gluronique	Foie, reins, poumons, cerveau

---

### **3.3.4- Excrétion**

L'excrétion est l'élimination de l'organisme d'une substance et de ses produits de biotransformation. Elle constitue, après le métabolisme, le second processus de disparition irréversible des xénobiotiques de l'organisme, en permettant le passage d'une molécule ou de ses métabolites hors de l'organisme et ce par différentes voies. Les molécules sont ainsi excrétées sous forme inchangée ou après biotransformation sous forme de métabolites généralement plus hydrosolubles.

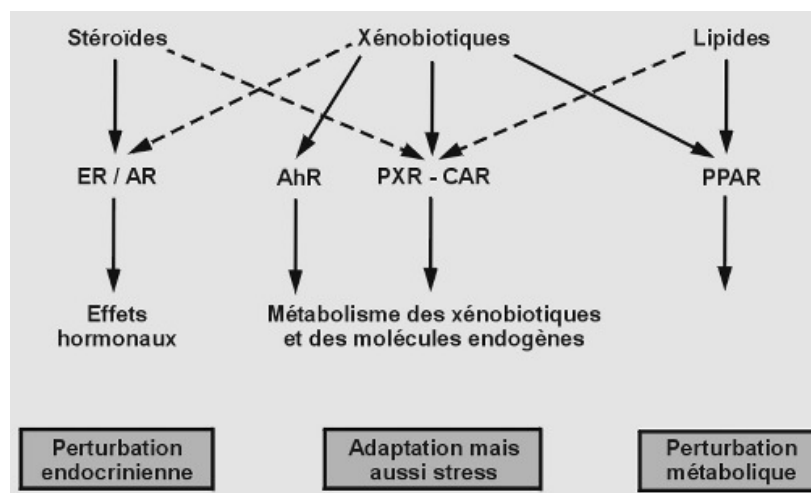
La principale voie d'élimination est urinaire, c'est à dire par les reins, mais d'autres voies secondaires existent ( biliaire au niveau hépatique, gastrique ou intestinale via les sécrétions digestives, lacrymale dans les sécrétions oculaires, pulmonaire par l'air exhalé, cutanée par le phénomène de sudation, lactée chez les femmes allaitantes...)

### **3.2- Toxicodynamie**

La toxicodynamie examine plus particulièrement l'interaction du xénobiotique avec sa cible et l'effet toxique que cela produit. L'effet toxique sera d'autant plus important que la forme toxique d'un xénobiotique est capable d'atteindre la cible et que cette dernière est sensible à l'agent exogène. Ainsi, la liaison du xénobiotique à sa cible moléculaire déclenche une cascade de signalisation à l'origine d'une réponse cellulaire.

#### **3.2.1- Fixation aux différents récepteurs**

Il faut distinguer un premier ensemble de récepteurs ayant pour fonction l'adaptation de l'organisme à l'afflux de xénobiotiques et dont l'activation est responsable de l'induction des systèmes enzymatiques d'élimination des xénobiotiques et un deuxième ensemble qui regroupe des récepteurs des composés endogènes comme les récepteurs hormonaux qui sont néanmoins susceptibles d'être modulés par des polluants comme les pesticides .



### *Différents types de récepteurs des xénobiotiques*

Les récepteurs des xénobiotiques comprennent le AhR ou Aryl hydrocarbon Receptor (récepteur pour dioxine, hydrocarbures aromatiques) ; le PXR ou Pregnane X Receptor (récepteur pour pesticides, médicaments...) ; le CAR ou Constitutive Androstane Receptor . La fixation de xénobiotiques sur leurs récepteurs (PXR, CAR, AhR) déclenche la transduction d'un signal permettant l'induction d'enzymes et de transporteurs nécessaires à leur élimination, mais cette signalisation met également en jeu tous les processus nécessaires à l'adaptation d'une cellule face au stress. Dans ce sens, les récepteurs aux xénobiotiques sont considérés comme des xénosenseurs car ils permettent de coordonner une réponse cellulaire adaptée. Parmi les xénosenseurs, le PXR constitue un acteur clé des systèmes adaptatifs. En effet, il est activé par un grand nombre de molécules structurellement et fonctionnellement variées.

Cette spécificité très large vis-à-vis des xénobiotiques caractérise les fonctions de xénosenseur du PXR. Il coordonne les processus de défense au niveau hépatocytaire en coréulant les mécanismes de détoxification, permettant la transcription de gènes codant pour des EMX (CYP3A4, CYP2B6, GST, MDR...) et les voies de survie et de mort cellulaire.

Les xénobiotiques peuvent également se fixer sur des récepteurs dont les fonctions physiologiques sont connues tels que le récepteur aux œstrogènes (ER), le récepteur aux androgènes (AR), le récepteur aux rétinoïdes (RAR), les récepteurs activés par les proliférateurs de peroxysomes (PPAR) et le récepteur T3R aux hormones thyroïdiennes. Il s'agit là d'une activation illégitime de ces récepteurs conduisant à une perturbation endocrinienne ou métabolique. Certains cancérigènes non-génotoxiques sont des perturbateurs endocriniens car ils se lient directement aux récepteurs ER (Estrogen Receptor),

---

à celui de la progestérone, au récepteur AhR ou encore au récepteur de l'hormone thyroïdienne.

En tant que xéno-œstrogènes, plusieurs pesticides sont considérés comme des perturbateurs endocriniens. Dans cette catégorie, on trouve des fongicides (alachlore, atrazine, bénomyl, vinclozoline...), des insecticides (DDT, métoxychlore, chlordécone, dieldrine, endosulfan, chlordane, toxaphène...). Ils sont actifs par eux-mêmes ou par leurs métabolites. Certains sont capables d'activer les deux types de récepteurs aux œstrogènes, ER alpha et ER bêta. L'endosulfan, l'alachlore et la chlodécone sont des ligands compétitifs du récepteur de la progestérone. Des fongicides (vinclozoline), des herbicides (linuron...), des insecticides (métabolite du DDT, pyréthrinoïdes comme la perméthrine...) sont des antagonistes des androgènes. Cependant, la plupart des substances présentent des effets variés sur d'autres hormones (cortisol, thyroxine, insuline...).

Par ailleurs, les xénobiotiques peuvent induire l'expression d'un grand nombre de gènes qui ne sont pas impliqués dans leur élimination. Il est essentiel de déterminer le rôle de ces gènes dans la toxicité des xénobiotiques.

---

## **Chapitre II: Mécanismes moléculaires de la génotoxicité**

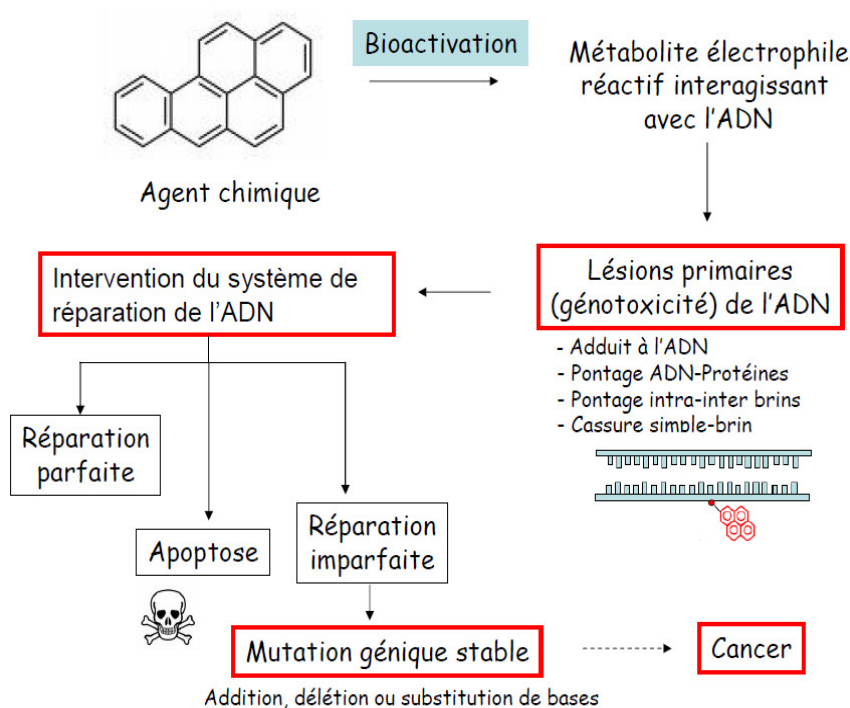
### **1- Agents génotoxiques (notion de mutagènes)**

Des modifications de la séquence nucléotidique de l'ADN peuvent apparaître de façon spontanée et peuvent aussi être provoqués par l'action de certains produits chimiques ou facteurs physiques. La génotoxicité se définit comme la capacité de certains agents dits « génotoxiques » à induire des dommages à l'ADN pouvant conduire à des mutations géniques ou chromosomiques. Malgré l'existence de mécanismes de réparation, de tels agents augmentent considérablement le nombre de changements qui apparaissent dans la séquence de l'ADN, ce qui rend difficile le travail de réparation : toutes les erreurs ne sont pas réparées. Si trop d'erreurs s'accumulent, les cellules touchées ne peuvent pas survivre : elles meurent, l'effet est létal. Par contre, dès qu'une modification est maintenue à la génération cellulaire suivante, il y a mutation. Ce changement de nucléotides entraînera ou non un changement de phénotype. Dans les faits il y a globalement augmentation du nombre de mutations sous l'action des agents susceptibles de modifier la séquence de l'ADN, c'est pourquoi on les désigne comme agents mutagènes.

Les agents génotoxiques, qui sont aussi le plus souvent des agents cancérigènes, sont nocifs du fait de leur présence non contrôlée, et parfois non contrôlable, dans l'environnement. Ils peuvent aussi être utilisés volontairement du fait de leur action mutagène. Par exemple, les généticiens ont beaucoup utilisé différents agents mutagènes, chimiques ou physiques, pour obtenir un plus grand nombre de mutants afin de comprendre le fonctionnement de cellules et des organismes. La médecine utilise aussi des agents mutagènes, en particulier dans la lutte contre des cancers. Ces agents sont classés en deux types:

- **Les agents génotoxiques directs** (nitrosométhylurée, diméthylsulfate ... ) qui sont capables de modifier directement la structure de l'ADN.
- **Les agents progénotoxiques** qui nécessitent une activation métabolique ou bioactivation préalable avant de pouvoir exercer leurs effets génotoxiques (hydrocarbures aromatiques polycycliques, PCB, amines aromatiques, nitrosamines et certains produits naturels comme les aflatoxines .... ). Dans ce cas, des intermédiaires électrophiles tels que les époxydes ou les ions carbonium sont les responsables ultimes des lésions induites sur divers sites nucléophiles du matériel génétique. En d'autres circonstances, la génotoxicité

est due à des sous-produits de l'interaction d'une substance avec les lipides, les protéines intracellulaires ou l'oxygène.



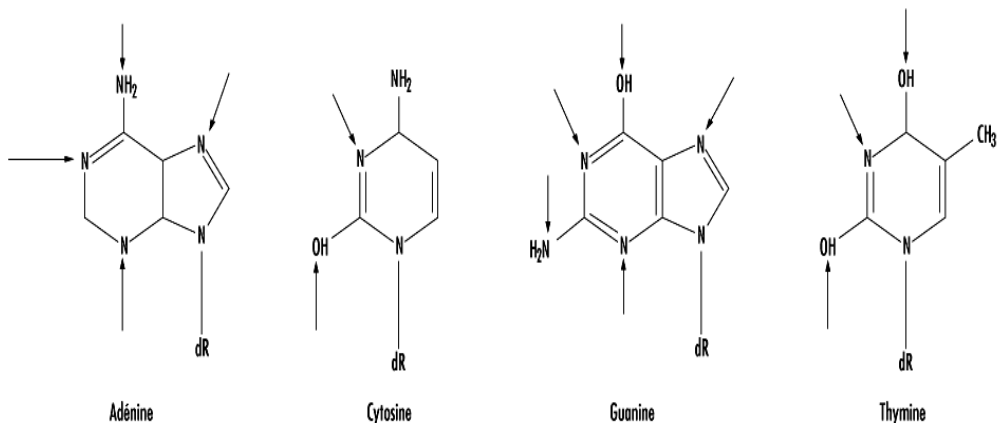
### *Effets génotoxiques, mutagènes et cancérologènes*

La probabilité pour qu'un produit chimique provoque une lésion génétique dépend nécessairement de plusieurs variables, en particulier le taux d'exposition de l'organisme au produit chimique, sa distribution et sa rétention une fois qu'il est entré dans l'organisme, l'efficacité de l'activation métabolique ou des systèmes de détoxification au niveau des cibles tissulaires et la réactivité du produit chimique ou de ses métabolites avec les macromolécules critiques à l'intérieur des cellules. La probabilité qu'une lésion génétique provoque une maladie dépend de plusieurs facteurs: nature de la lésion, capacité de la cellule de réparer ou d'amplifier la lésion génétique, possibilité pour une lésion de s'exprimer et aptitude de l'organisme à reconnaître et à bloquer la multiplication des cellules aberrantes.

## **2- Agents mutagènes et nature des dommages de l'ADN**

Les théories les plus anciennes sur l'interaction des produits chimiques avec l'ADN datent des études conduites lors de la mise au point du gaz moutarde comme gaz de combat. Par la suite, les efforts déployés pour identifier les agents anticancéreux susceptibles de bloquer sélectivement la réplication des cellules tumorales ont peu à peu permis de mieux comprendre cette interaction. Au niveau moléculaire, les composés électrophiles attaquent les

atomes d'oxygène et d'azote sur l'ADN. Bien que les atomes d'oxygène des groupements phosphates de la chaîne principale de l'ADN soient également la cible des modifications chimiques, on estime que les lésions des bases sont plus intéressantes du point de vue biologique, car elles sont des éléments d'information essentiels de la molécule d'ADN.



### *Sites primaires des lésions sur l'ADN induites chimiquement*

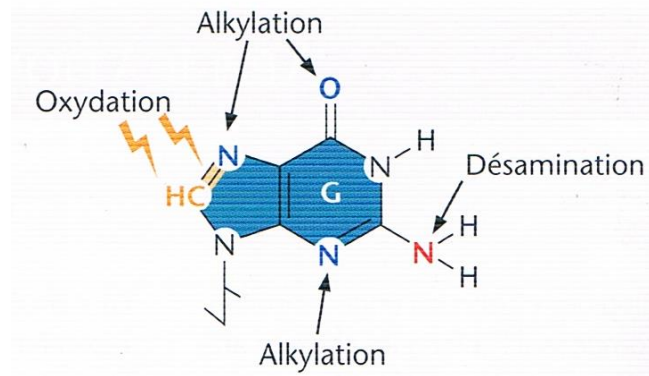
En raison de la grande variété de structures et de modes d'action des substances génotoxiques, il existe un grand nombre de dommages à l'ADN possibles. Ces altérations structurales de l'ADN appelées lésions primaires concernent principalement des modifications des bases constitutives de l'ADN ou des cassures affectant un seul ou les deux brins de l'ADN. Ainsi, en définit :

**2.1- Les adduits encombrants** qui correspondent à l'entité chimique résultant de l'établissement d'une liaison covalente entre une molécule chimique électrophile et un site nucléophile d'une base de l'ADN. Parmi les sites nucléophiles, les azotes aromatiques, les groupements hydroxyles et carbonyles des bases constitutives de l'ADN sont les cibles privilégiées des génotoxiques. Certains agents mutagènes tels que les HAP et les amines aromatiques sont capables de réaliser ce type de liaison entraînant la formation d'un complexe appelé adduit (pour produit d'addition). Cette lésion entraîne une modification de la structure spatiale de l'ADN au voisinage de l'adduit qui va perturber sa reconnaissance par l'ADN polymérase au cours du processus de réplication. La formation et la persistance de telles lésions de l'ADN sont des étapes clé vers la mutagenèse et le développement tumoral.

**2.2- Les micro-adduits** formés par l'alkylation d'une base azotée de l'ADN. Ces modifications bien que minimales perturbent la reconnaissance de la base par l'ADN

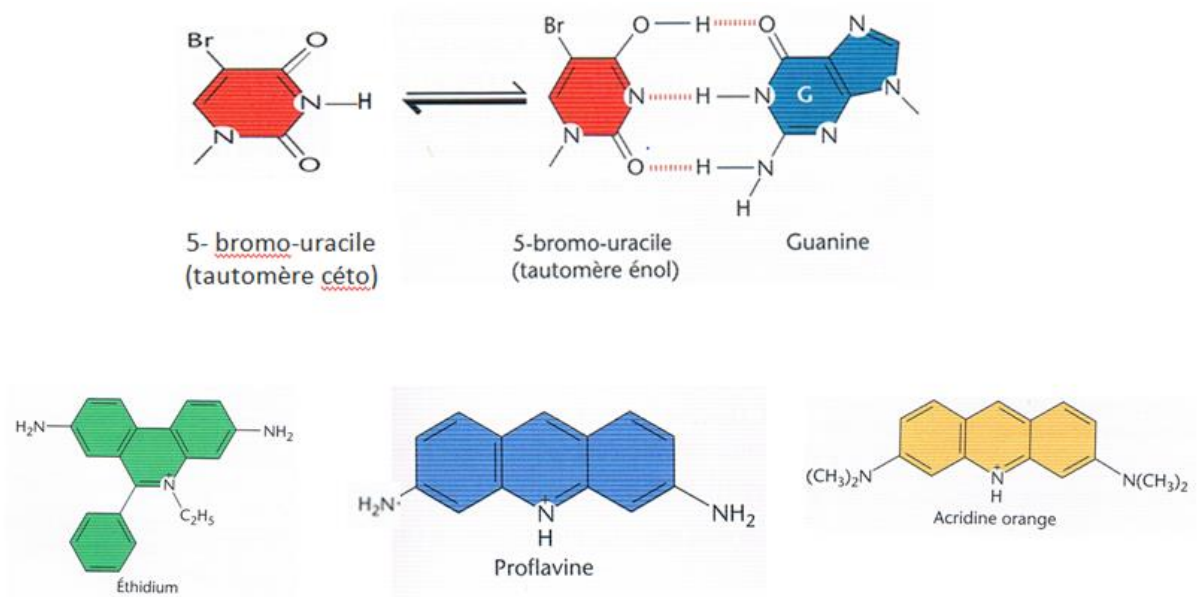
polymérase lors de la duplication de l'ADN. Les nitrosurées, les alkylsulfonates et les cyclophosphamides qui sont largement utilisés comme agents chimiothérapeutiques pour le traitement du cancer sont pour la plupart des agents alkylants.

**2.3- Les lésions oxydatives de l'ADN** qui sont générées lors de l'attaque des bases de l'ADN par les espèces réactives de l'oxygène. Ces lésions concernent notamment la guanine dont le produit d'oxydation majeur est la 8-oxo-7,8-dihydro-2'-desoxyguanosine (8-oxodGuo).



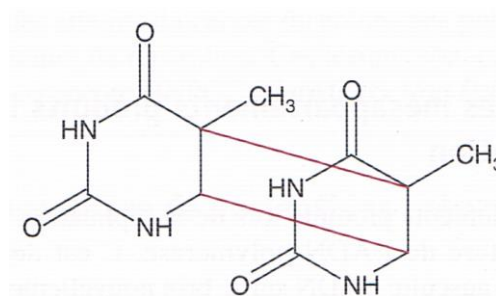
**Sites spécifiques pouvant être altérés sur la guanine**

**2.4- Les mutations ponctuelles** telles que les insertions ou les modifications d'une ou plusieurs bases de l'ADN. Les agents génotoxiques impliqués sont pour la plupart des analogues de bases azotées, tels que le 5-bromo uracile ou la 2-amino purine, présentant des similitudes structurales avec les bases normales de l'ADN. Elles seront incorporées à l'ADN où elles provoquent des mutations en générant des appariements incorrects de bases. Ces analogues provoquent principalement des mutations de type A:T vers G:C ou G:C vers A:T (transitions). L'acide nitreux peut, quant à lui, provoquer la désamination de la cytosine ou de l'adénine pour produire respectivement de l'uracile ou de l'hypoxanthine qui présentent une forte homologie structurale avec la guanine. Ces lésions provoquent là encore majoritairement des transitions de type A:T vers G:C ou G:C vers A:T. Les agents intercalants tels que le bromure d'éthidium ou la proflavine sont des molécules à géométrie plane qui peuvent s'insérer entre les paires de bases entraînant l'étirement de l'ADN et l'insertion d'une base surnuméraire.



### Analogues de base et agents intercalants responsables de mutations de l'ADN

**2.5- Les pontages d'ADN :** D'autres types de lésions sont possibles mais apparaissent moins fréquemment lors de l'exposition à des génotoxiques chimiques. Il s'agit des pontages intra ou inter-brins qui correspondent à des liaisons covalentes anormales établies entre bases de l'ADN et aux cassures simples et doubles brins générées essentiellement par les rayonnements ionisants.



Structure d'un dimère de thymine

### *Exemples de produits chimiques génotoxiques pour des cellules humaines*

<b>Classe du produit chimique</b>	<b>Exemple</b>	<b>Origine de l'exposition</b>	<b>Lésion génotoxique probable</b>
Aflatoxines	Aflatoxine B1	Aliments contaminés	Adduits de grande taille sur l'ADN
Amines aromatiques	2-Acétylaminofluorène	Environnement	Adduits de grande taille sur l'ADN
Quinones aziridine	Mitomycine C	Chimiothérapie anticancéreuse	Mono-adduits, pontages interbrins et cassures simple brin dans l'ADN
Hydrocarbures chlorés	Chlorure de vinyle	Environnement	Mono-adduits de l'ADN
Métaux et composés métalliques	Cisplatine	Chimiothérapie anticancéreuse	Pontages intrabrin et interbrins dans l'ADN
	Composés du nickel	Environnement	Mono-adduits et cassures simple brin dans l'ADN
Moutardes azotées	Cyclophosphamide	Chimiothérapie anticancéreuse	Mono-adduits et pontages interbrins dans l'ADN
Nitrosamines	N-Nitrosodiméthylamine	Aliments contaminés	Mono-adduits de l'ADN
Hydrocarbures aromatiques polycycliques	Benzo(a)pyrène	Environnement	Adduits de grande taille sur l'ADN

### 3- Tests de génotoxicité

L'évaluation de la toxicité génétique est l'étude de la faculté qu'ont certains agents d'induire, au niveau du matériel génétique (ADN), des lésions ou des mutations de l'un des trois types suivants: génique, chromosomique ou génomique. De multiples tests de génotoxicité sont déjà appliqués depuis longtemps dans le monde pour la surveillance du risque mutagène/cancérogène chez des travailleurs exposés à des agents génotoxiques.

Ils sont un outil, le seul pour l'instant, pour pouvoir évaluer les effets précoces, prédictifs du risque de cancer, de l'exposition à des agents génotoxiques.

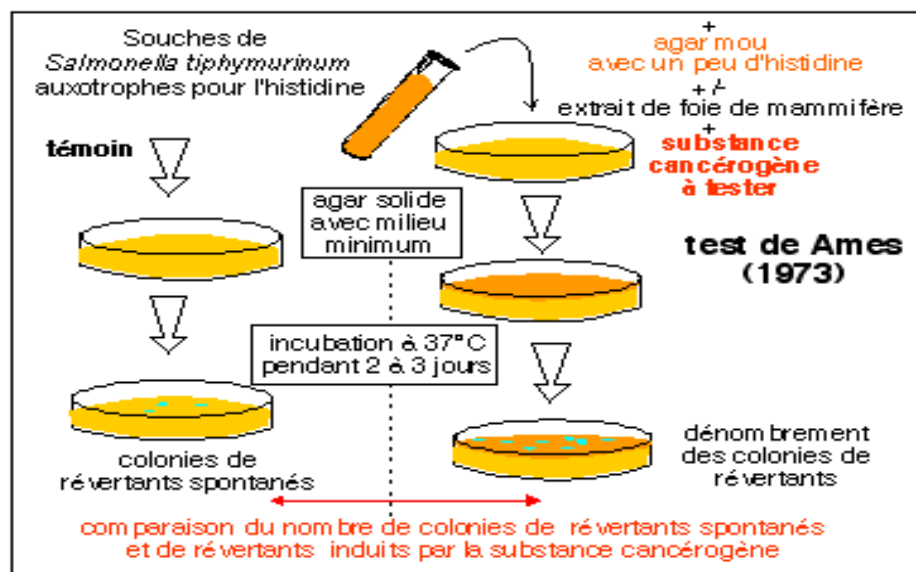
Trois catégories pour les principaux tests :

- I. Les marqueurs de l'activité mutagène des milieux biologiques : le test d'Ames
- II. Les marqueurs des anomalies cytogénétiques
- III. Les marqueurs de liaisons à l'ADN ou adduits.

### 3.1- Test de Ames

Le test d'Ames consiste à examiner si une substance chimique ou un agent physique est capable d'induire des mutations spécifiques chez différentes souches de *Salmonella typhimurium* (Ames, 1973).

Les souches utilisées sont porteuses d'une mutation dans un des gènes gouvernant la synthèse de l'acide aminé histidine. Cette mutation His<sup>-</sup> rend les souches incapables de pousser sur un milieu sans histidine. Avec une fréquence très faible, ces mutations His<sup>-</sup> reverts spontanément vers His<sup>+</sup> et donc les cellules retrouvent leur capacité à pousser sur un milieu dépourvu d'histidine. Cette fréquence de réversion peut augmenter en exposant les bactéries His<sup>-</sup> à des agents mutagènes. Ainsi, le test d'Ames permet, en quantifiant l'induction de ces mutations réverses His<sup>+</sup>, de mesurer le potentiel génotoxique de la substance ou préparation étudiée.



*Le test de Ames*

### 3.2- Tests de mutations ponctuelles

Ils sont pratiqués sur des cellules de mammifères mises en culture et basés sur la déficience d'une enzyme révélée par la résistance à un agent cytotoxique.



---

l'allèle M chez les hétérozygotes M/N (représentant 50 % de la population, quelle que soit la race). Il est appliqué uniquement lors d'une exposition in vivo à l'agent génotoxique étudié et est donc utilisable pour la bio-surveillance du personnel.

La réalisation pratique du test se fait par cytométrie de flux à l'aide d'anticorps discriminant les formes M et N au niveau des globules rouges. L'expression des résultats se fait par rapport à la fréquence des variants sur le nombre total de globules rouges analysés.

### **3.2.3- Test de mutation ponctuelle au locus TK (thymidine kinase)**

Il est basé sur l'apparition de cellules mutantes perdant l'expression fonctionnelle d'une enzyme, la thymidine kinase (TK) sous l'action du génotoxique. Ces cellules mutantes sont capables de proliférer in vitro en présence de trifluorothymidine (TFT), car l'enzyme TK est requise pour la bioactivation de ce toxique analogue des pyrimidines.

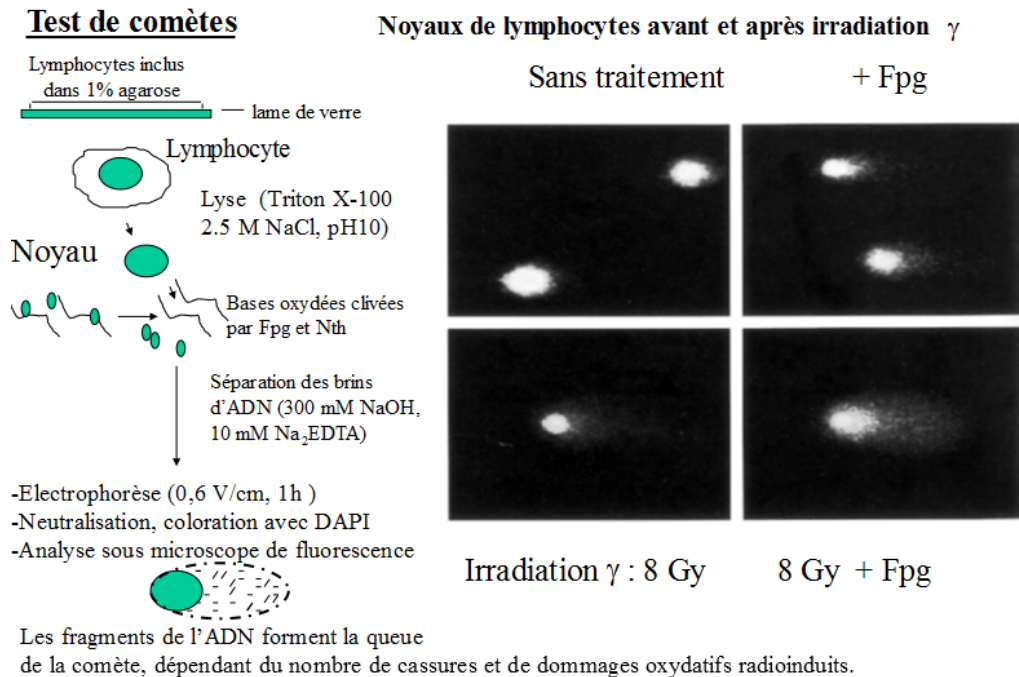
La réalisation pratique du test consiste habituellement à déterminer la clonogénicité des cellules de lymphome de souris L5178Y dans les conditions contrôle et traitées en présence de TFT. Les colonies cellulaires sont ensuite colorées et numérées au microscope. L'expression des résultats se fait en déterminant la fréquence de mutants, c'est-à-dire le nombre de colonies mutantes en présence de TFT/nombre de clones en absence de TFT.

### **3.3- Test des comètes**

Le test des comètes permet de quantifier les lésions primaires de l'ADN, notamment des cassures de l'ADN, qui représentent une des lésions à forte probabilité d'apparition après exposition à des agents mutagènes. Sur le plan technique, ce test des comètes (ou single cell gel electrophoresis assay) correspond à une technique d'électrophorèse sur microgel d'agarose permettant de détecter des fragmentations de l'ADN de cellules individualisées. Le test réalisé dans sa version alcaline permet notamment la détection des cassures de l'ADN simple et double brin et aussi des sites de réparation incomplète. Les sites de dommages à l'ADN peuvent aussi être révélés après traitement par des enzymes type endonucléase et glycosylase, qui vont générer des cassures visualisables par le test des comètes au niveau des lésions de l'ADN; l'utilisation d'endonucléase peut ainsi permettre de détecter des lésions oxydatives des bases de l'ADN.

La réalisation pratique du test consiste, après lyse des membranes cellulaires, à la dénaturation de l'ADN en milieu fortement alcalin. L'ADN des cellules est ensuite placé dans un champ électrique permettant la migration différentielle des fragments. Compte tenu du

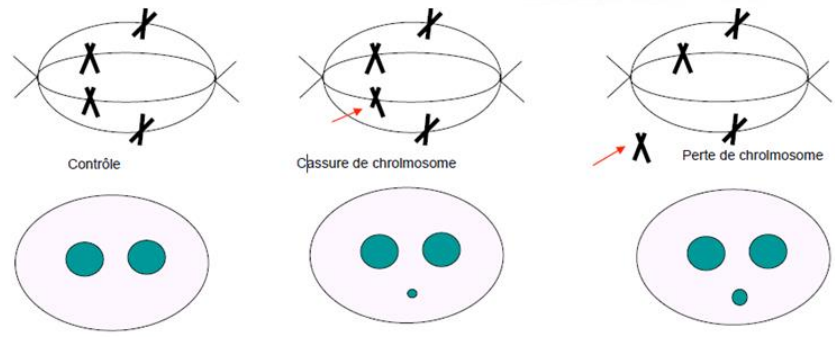
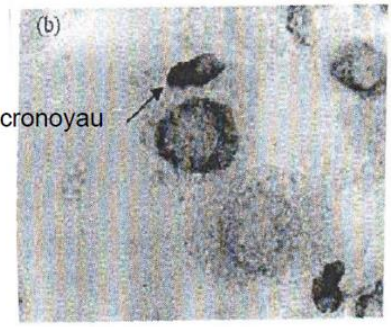
faible voltage et ampérage, les molécules d'ADN intactes et donc trop "lourdes" pour avoir été déplacées par le champ électrique vont décrire une sphère compacte. Un ADN endommagé va, quant à lui, voir migrer ses fragments les plus courts en dehors de cette sphère, formant ainsi un "halo" d'ADN s'étirant en direction de l'anode. Les figures ainsi décrites sont alors tout à fait comparables à des comètes.



### 3.4- Test des micronoyaux

Les micronoyaux sont des entités nucléaires indépendantes du noyau principal, provenant de la perte de fragments chromosomiques ou de chromosomes entiers pendant la division nucléaire, conséquences respectivement d'effets clastogènes (cassures double brin de la molécule d'ADN) ou d'effets aneugènes (altérations de l'appareil mitotique liées principalement à des interactions avec les protéines). Les test des micronoyaux a donc pour objet de détecter et énumérer ces micronoyaux, dans des cellules traitées in vitro par l'agent génotoxique ou provenant d'une exposition in vivo (par exemple des lymphocytes de rongeurs ou de sujets humains exposés à l'agent génotoxique) ; il s'agit d'un cas particulier du test précédent (aberrations chromosomiques) qui va être applicable à l'analyse du potentiel génotoxique d'un composé ou à la surveillance de personnels exposés en médecine du travail .

- Incubation des cellules avec la substance à tester (24h),
- Addition de cytochalasine (prévention de la cytokinèse),
- Etallement des cellules sur lame de verre
- Analyse des noyaux (coloration)



*Test des micronoyaux*

### 3.5- SOS chromotest

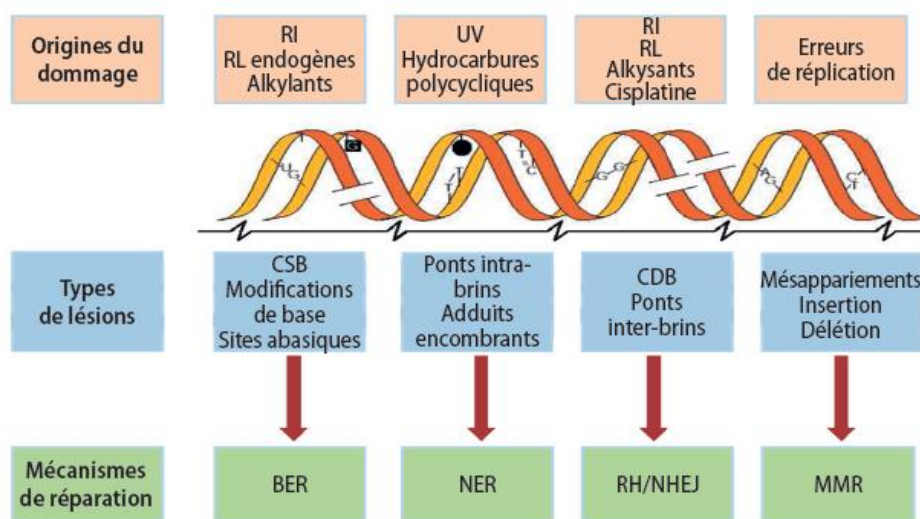
Ce test est basé sur la mise en œuvre du système SOS activé chez les bactéries suite aux dommages à l'ADN. Ce test détecte donc indirectement ces dommages à l'ADN. La lecture se fait grâce à la mise en évidence d'une activité -galactosidase artificiellement couplée à l'induction de la réponse SOS dans la souche bactérienne utilisée (E Coli). Ce test est réalisable en microméthode (plaque 96 puits). Il est notamment applicable aux extraits de sol, sédiments, à l'eau et à l'atmosphère .

### Chapitre III: Mécanismes de réparation de l'ADN

La molécule d'ADN, support porteur de l'information génétique, est sujette à de nombreuses altérations de bases ou de nucléotides consécutives, d'une part à des erreurs spontanées, d'autre part à des lésions de l'ADN induites par des agents physiques ou chimiques qualifiés de génotoxiques. Afin de garantir la conservation de l'information et donc l'intégrité de l'ADN, les cellules ont élaboré plusieurs systèmes moléculaires capables de détecter et réparer les dommages, qu'ils soient causés par l'environnement ou par des erreurs de réplication.

#### 1- Les différents systèmes de réparation de l'ADN

La grande diversité des types de lésions de l'ADN (cassures double-brins (DNA double-strand break [DSB]) et simple-brin (DNA single-strand break [SSB]), petite lésion à l'ADN, mutation d'une paire de bases. . .) nécessite un large spectre de voies de réparation de l'ADN pour le maintien de la stabilité génomique. Les cellules disposent de différentes voies de la réparation de l'ADN à savoir: *direct repair* ou réparation directe (DR), *nucleotide excision repair* ou réparation par excision de nucléotides (NER), *base excision repair* ou réparation par excision de bases (BER), *mismatch repair* ou réparation des mésappariements (MMR), *homologous repair* ou réparation par recombinaison homologue (HR) et *non-homologous end-joining* ou jointure d'extrémités non-homologues (NHEJ) et La synthèse translésionnelle ou TLS.



**Différents types de lésions de l'ADN selon la source du dommage et principaux mécanismes de réparation correspondants.**

---

Etant spécifiques d'une altération donnée, les mécanismes de réparation de l'ADN sont classés en deux types de systèmes de réparation. Les mécanismes conservatifs qui garantissent une réparation fidèle et les systèmes dits fautifs qui interviennent dans un second temps lorsque les mécanismes conservatifs sont dépassés par l'abondance des lésions de l'ADN. Ces systèmes fautifs permettent une réparation d'urgence qui autorise alors la reprise de la réplication de l'ADN mais ne garantit pas le maintien de l'intégrité de cet ADN.

### ***1.1- Réparation directe (DR)***

La voie de réparation DR est spécialisée dans la réparation des adduits d'alkyles des bases d'ADN tels que les O6-méthylguanines. La présence d'un O(6)-alkylguanine est mutagène et cancérigène à cause de sa préférence, lors de la réplication de l'ADN, pour s'hybrider avec une thymine (au lieu d'une cytosine). La voie DR fait intervenir une alkylguanine alkyltransférase (AGT, ou MGMT pour O6-méthylguanine-DNA méthyltransférase) qui catalyse le transfert du groupement méthyle de l'oxygène en position 6 de la guanine sur l'une de ses propres cystéines. L'information génétique n'est donc pas modifiée. La découverte de l'AGT et de son rôle actif dans la détoxification des lésions induites par un grand nombre d'agents alkylants utilisés en chimiothérapie (temozolomide. . .) a fait de cette enzyme une cible de choix dans la recherche de nouvelles molécules pouvant potentialiser l'action de ces médicaments.

### ***1.2- Mécanismes de la réparation par excision de nucléotide (NER)***

Le NER est le système le plus polyvalent en terme de diversité de lésions reconnues. Il prendra aussi bien en charge les lésions induites par le rayonnement UV, que les lésions formées par de nombreux agents cancérigènes comme le benzopyrène, l'aflatoxine B1 ou les dérivés du cisplatine. Cependant, dans les cellules humaines, la fonction première du NER est sans doute d'éliminer les dommages induits par les UV.

On distingue deux voies de NER, une voie dite globale, qui répare les adduits indépendamment de leur localisation, et une voie couplée à la transcription qui répare plus rapidement les adduits localisés dans le brin transcrit des gènes actifs. Exception faite pour la détection initiale de la lésion, ces deux voies utilisent essentiellement les mêmes gènes.

---

### ***1.2.1- Réparation globale du génome***

Le mécanisme de NER peut être divisé en quatre étapes: la reconnaissance des dommages, l'ouverture de l'ADN de part et d'autre de la lésion, l'incision du brin d'ADN contenant la lésion et, finalement, la re-synthèse d'ADN et la ligation afin de remplacer l'oligonucléotide excisé. La reconstitution du système *in vitro* a permis de montrer que 15 à 18 polypeptides sont capables de reconnaître le dommage et de faire la double incision et qu'environ une autre douzaine de protéines sont, elles, nécessaires à l'étape de re-synthèse.

Bien que les bases structurales qui permettent la reconnaissance d'une lésion par le système NER ne soient pas complètement élucidées, on admet généralement que, pour être bien reconnue, une lésion doit « déformer suffisamment la structure régulière de la double hélice. Bien que plusieurs protéines impliquées dans le NER reconnaissent de façon préférentielle l'ADN endommagé par rapport à de l'ADN non endommagé, il a été clairement établi que le complexe XPC-hHR23B est le facteur essentiel dans la reconnaissance initiale de la distorsion.

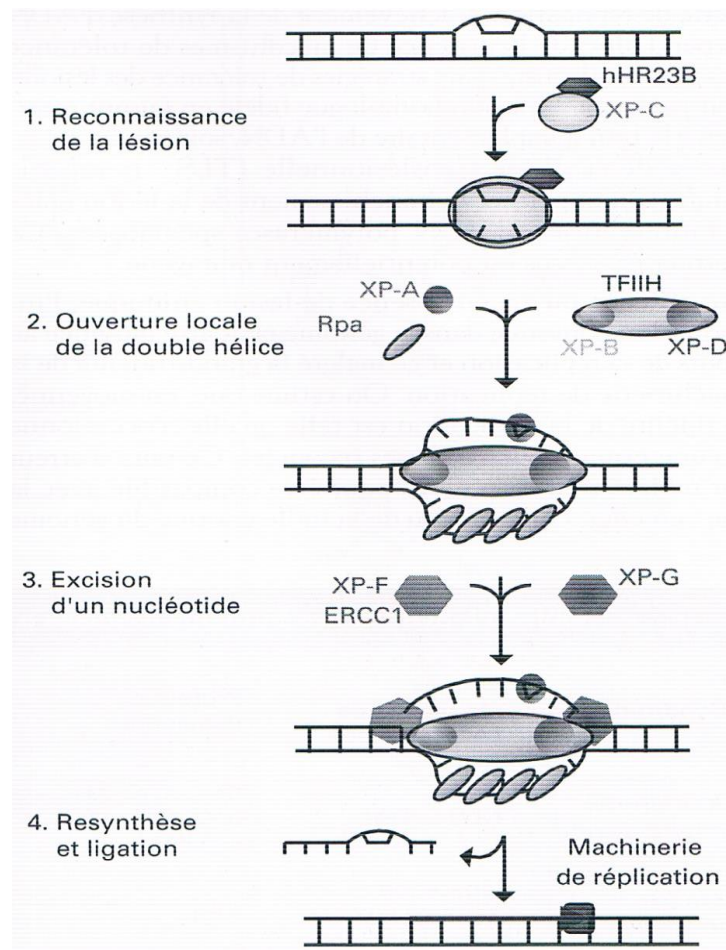
Dans une seconde étape, sont recrutées la protéine XPA, l'hétérotrimère RPA qui se fixe à l'ADN simple brin et le complexe TFIIH composé de six à neuf protéines différentes. Une structure ouverte et déroulée se forme alors autour de la lésion. La formation de cet intermédiaire « ouvert » nécessite essentiellement l'action de deux protéines du complexe TFIIH, XPB et XPD, pourvues chacune d'une activité hélicase de polarité opposée. La reconnaissance du brin endommagé entraîne l'arrêt des activités de translocation de ces hélicases. Cette structure en forme de « bulle » comporte deux jonctions entre ADN simple et double brin, jonctions reconnues par deux nucléases spécifiques, les enzymes XPG et Ercc1 - XPF. Un oligonucléotide, de taille comprise entre 24 et 32 nucléotides, est alors libéré et la brèche est remplie par la machinerie de réplication et scellée par l'ADN ligase 1.

### ***1.2.2- Réparation couplée à la transcription***

Les lésions présentes dans le brin transcrit des gènes actifs sont corrigées cinq à dix fois plus rapidement que celles du brin non transcrit. La voie de réparation couplée à la transcription (TCR: transcription-coupled repair) se distingue de la voie de réparation globale du génome (GGR: global genome repair) au niveau de l'étape initiale de reconnaissance de la lésion. En effet, hormis le complexe XPC-hHR23B spécifiquement impliqué dans l'étape de reconnaissance de la lésion, tous les autres facteurs utilisés pour la réparation NER globale du génome sont également utilisés dans la voie TCR. Le signal de recrutement de la machinerie

de réparation dans la voie TCR est directement lié à l'arrêt de la progression de l'ARN pol II au niveau de la lésion sur le brin transcrit. Ce type de recrutement alternatif implique les protéines CSA et CSB qui servent à coupler l'arrêt de la transcription à la réparation.

Le facteur TFIIH, initialement identifié comme facteur général de la transcription, est également indispensable à la réparation par excision, mettant en évidence la participation de ce facteur à deux fonctions cellulaires bien distinctes. Grâce à ses hélicases XPB et XPD, TFIIH est capable de créer une structure ouverte autour d'une lésion de l'ADN au cours du mécanisme de NER ainsi qu'au cours de l'initiation de la transcription au niveau des séquences promotrices.



*Mécanisme de réparation par excision de nucléotides (NER)*

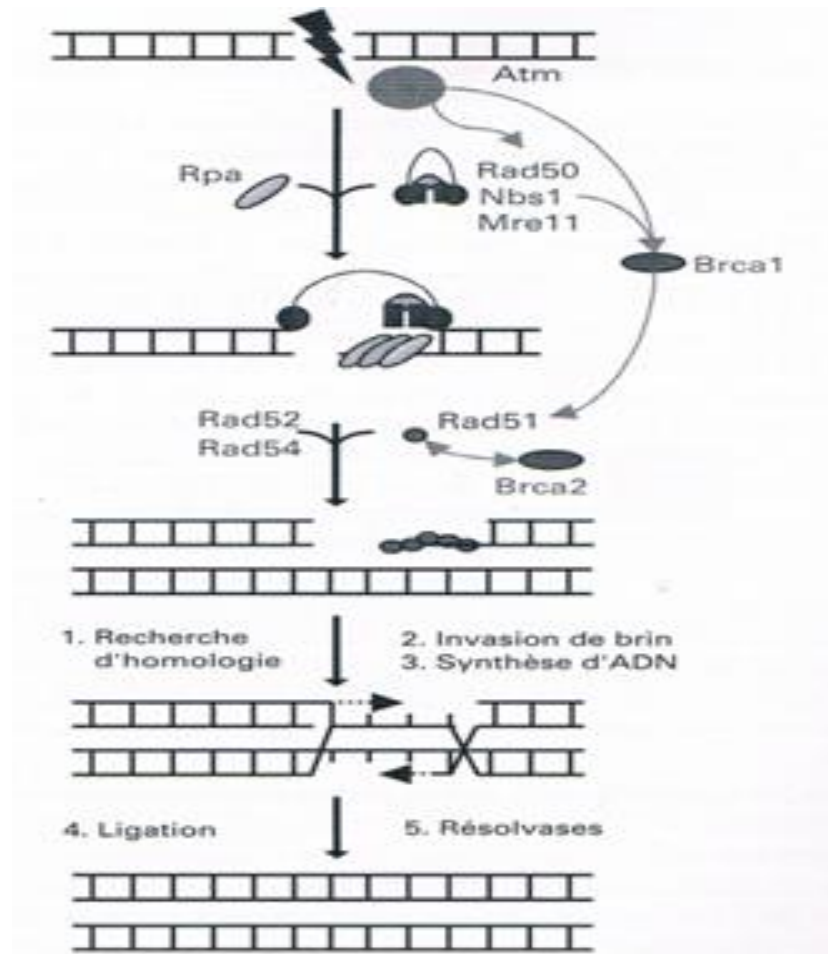
---

### ***1.2.3- Mécanisme de réparation des cassures double brin par recombinaison homologue (DSB repair)***

Les cassures double-brin de l'ADN peuvent survenir lorsque celui-ci est soumis à des radiations ionisantes, des rayons X, des radicaux libres ou des agents chimiques. La détection par la cellule de la cassure double-brin produit une cascade de réactions qui conduit à l'arrêt du cycle cellulaire. Les cassures double-brin sont réparées par deux mécanismes la recombinaison homologue et un mécanisme dit « end-joining ».

Après la formation d'une cassure double-brin dans la structure de l'ADN, le mécanisme de recombinaison homologue est initié par le phénomène d'invasion de brin. L'activité exonucléase 5'-3' du complexe Rad50/Mre11/Nbs1, activé par phosphorylation par la protéine kinase Atm, engendre la formation d'ADN simple brin ayant une extrémité 3'. Ces fragments d'ADN simple brin sont ensuite recouverts par les protéines Rpa qui les protègent de l'action d'autres nucléases. La protéine Rad51, en collaboration avec Rad52 et probablement les protéines Xrcc2, Xrcc3, Rad51B, C et D, s'assemble sous forme d'un nucléofilament autour de cette même extrémité en déplaçant RPA. Rad51 possède une activité « recombinase » qui lui permet de rechercher une homologie de séquence entre un ADN simple brin et une molécule d'ADN double-brin. Cette recherche d'homologie est sans doute facilitée par le fait que les chromatides sœurs sont maintenues alignées grâce à des ponts de cohésine. Rad54, protéine de la famille des SWIF/SNF ATPase dépendante de l'ADN, jouerait un rôle dans la formation de complexe avec la chromatine. Après reconnaissance de la séquence d'ADN identique sur la chromatide sœur, la copie double-brin intacte est utilisée comme matrice pour réparer correctement, par synthèse d'ADN, les extrémités cassées. Les structures intermédiaires ainsi formées, appelées jonctions de Holliday, sont résolues par des résolvas.

La recombinaison homologue implique l'action simultanée d'un grand nombre de mêmes molécules (Rad51, Rpa --- ) qui se retrouvent concentrées au niveau de foyers induits après les radiations dans le noyau. Ces processus de transport et de stockage dépendent de Brca1 et Brca2 qui co-localisent avec ces foyers. Brca1, rapidement phosphorylé après formation de cassures, joue un rôle dans l'arrêt du cycle cellulaire. Brca2 est directement impliqué dans la translocation nucléaire de Rad51 dans le noyau et module la fixation à l'ADN de Rad51 par interaction directe.



### ***Réparation de cassure double-brin par recombinaison homologue (DSB repair).***

Parallèlement à cette voie de réparation fidèle des cassures double-brin par recombinaison homologue, il existe une voie dite de « end-joining ». Cette réaction produit l'accrolement simple des extrémités d'ADN cassées en utilisant les protéines Ku70/80 et DNA-PKcs suivi de la ligation par le complexe Ligase4-XRCC4. Ku70/80 sont responsables de la protection des extrémités et de leur rapprochement, ainsi que du recrutement de DNA-PKcs. Ce mécanisme est en général infidèle car associé à un gain ou à une perte de quelques nucléotides au cours de la réparation de la cassure.

#### ***1.2.4- Synthèse translésionnelle***

La synthèse translésionnelle (TLS pour translesion synthesis) implique la réplication d'un ADN contenant une lésion. Il ne s'agit donc pas, à proprement parler, d'un mécanisme de

---

réparation mais d'un mécanisme de tolérance de la lésion. Ce processus est par essence peu fidèle et s'accompagne fréquemment de la mise en place d'une mutation.

Si, au cours de la réplication, il subsiste des lésions qui n'ont pas été réparées par les mécanismes d'excision, la machinerie de la réplication peut se trouver bloquée au niveau du site du dommage. En 1999, une nouvelle famille d'ADN polymérase (famille Y), dont le rôle est d'assister la machinerie répliquative quand une lésion est présente sur la matrice d'ADN, a été découverte. Ces ADN polymérase, spécialisées dans le recopiage d'ADN contenant des lésions, peuvent remplacer temporairement la polymérase répliquative. Le franchissement d'une lésion peut s'envisager en deux étapes distinctes, l'incorporation en face du nucléotide modifié puis l'étape d'extension de cet intermédiaire. Chacune de ces étapes représente un défi pour les ADN polymérase répliquatives qui ne recopient efficacement et fidèlement que l'ADN non endommagé. Pour cela, chaque organisme possède plusieurs ADN polymérase spécialisées dans le franchissement des lésions. En fonction de la nature chimique de la lésion et de son contexte de séquence, l'une ou l'autre ou souvent une combinaison de deux polymérase est nécessaire au franchissement de la lésion considérée.

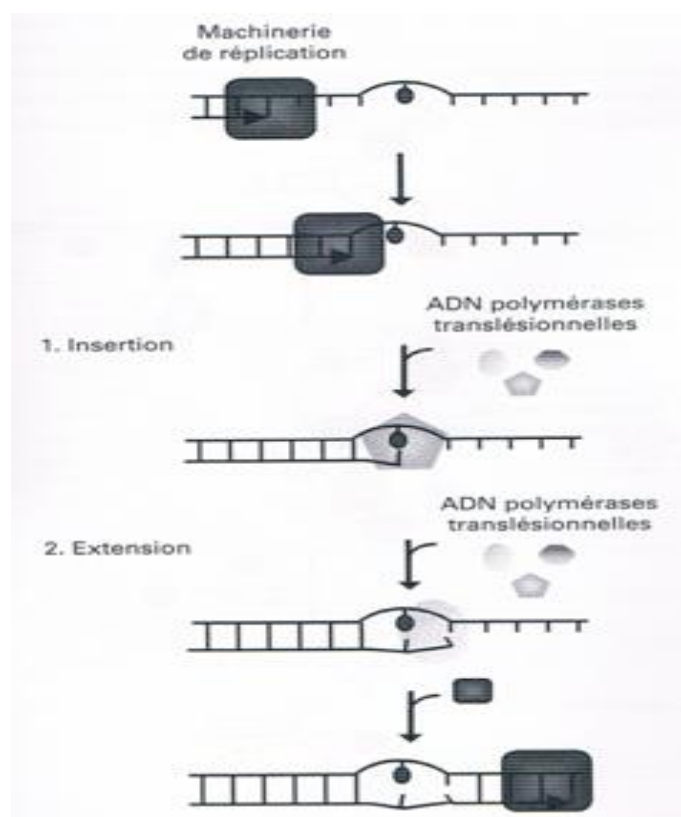
Ces ADN polymérase spécialisées dans le franchissement des lésions (TLS) ont été identifiées à la fois chez *Escherichia coli*, *S. cerevisiae* et les eucaryotes supérieurs. Elles contiennent cinq motifs homologues conservés au cours de l'évolution, mais ne présentent aucune homologie de séquence avec les ADN polymérase des autres familles identifiées jusqu'alors, bien que leurs structures tridimensionnelles soient semblables. Elles constituent ainsi une nouvelle classe d'ADN polymérase, la famille Y. Chez l'homme, quatre ADN polymérase de cette famille ont été identifiées :

- l'ADN polymérase éta ( $pol\eta$ , produit du gène RAD30A), joue un rôle primordial dans le franchissement des lésions induites par les UV.
- l'ADN polymérase iota ( $pol\iota$ , produit du gène RAD30B) dont l'une des fonctions, en plus d'un rôle potentiel dans la TLS, pourrait être de participer à l'hypermutation somatique;
- l'ADN polymérase kappa ( $pol\kappa$ , produit du gène DINB1);
- la protéine Rev1 dotée d'une activité désoxycytidyl transférase capable d'insérer un C en face d'un site abasique, mais dont le rôle dans la réponse aux UV reste à déterminer. Ces ADN polymérase se caractérisent par leur faible fidélité, liée notamment à l'absence

---

d'activité de correction de lecture. La structure particulière de leur site actif leur permet de tolérer et de répliquer l'ADN contenant des lésions ou des distorsions.

Des polymérases autres que celles de la famille Y peuvent participer au franchissement de certaines lésions. C'est le cas de Pol II chez *E. coli* et de l'ADN polymérase Pol $\zeta$  de levure ou humaine qui présentent des similarités avec les ADN polymérases répliquatives. Pol $\zeta$  est constituée de deux sous-unités, Rev3 contenant l'activité catalytique et Rev7. Il a été montré que cette polymérase était spécialisée dans la deuxième étape de la TLS, l'étape d'extension.



*Synthèse translésionnelle (TLS)*

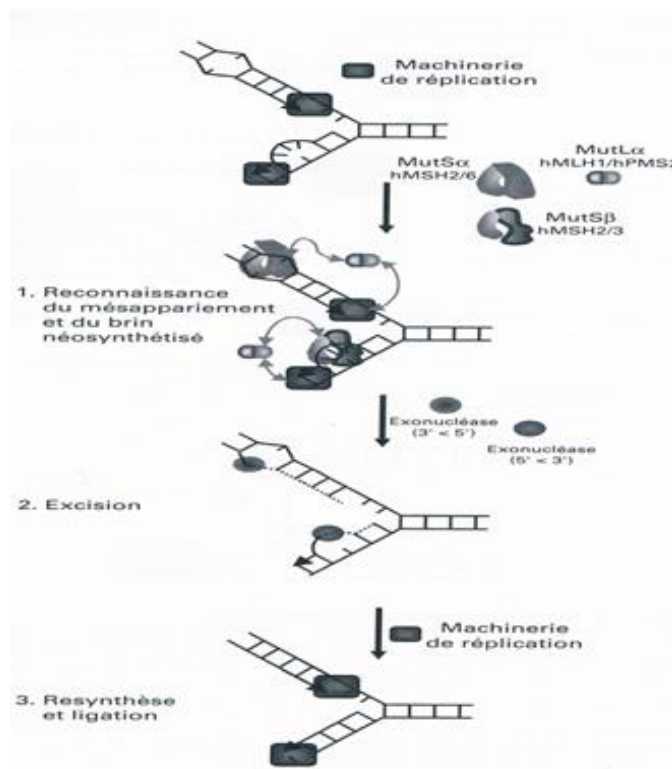
### **1.2.5- Réparation de mésappariements**

Le système de réparation des mésappariements (MMR pour *mismatch repair*) élimine les bases mal appariées qui apparaissent avec une fréquence faible ( $=10^{-7}$ ) au cours de la répllication normale du génome. Ce système corrige également les boucles d'insertion ou de délétion (insertion/deletion loops ou IDL) qui résultent du glissement de la machinerie de répllication au niveau des séquences répétées.

Le mécanisme de MMR peut être subdivisé en quatre étapes : la reconnaissance du mésappariement, le recrutement de facteur accessoire, la recherche d'un signal permettant de différencier les deux brins (reconnaissance du brin néo-synthétisé contenant l'erreur par rapport à la matrice contenant l'information originale) suivie par la dégradation du brin contenant l'erreur et resynthèse.

L'étape de reconnaissance du mésappariement ou de l'IDL est accomplie par hMutS, un hétérodimère de protéines homologues à la protéine MutS d'*E.coli*. Msh2 et Msh6 forment l'hétérodimère MutS $\alpha$  qui reconnaît un mésappariement et les IDL d'une base. Par ailleurs, l'hétérodimère MutS $\beta$ , formé par Msh2 et Msh3 ne reconnaît spécifiquement les IDL de taille supérieure à 1.

Un changement de conformation convertit alors l'hétérodimère en un anneau glissant qui va quitter le site de mésappariement et se déplacer sur l'ADN. Ce changement de conformation est suivi de son assemblage avec le complexe hMutL $\alpha$ , composé d'Mlh1 et Pms2 (homologue humain de MutL bactérien et PMS pour post-meiotic segregation), la machinerie de réplication ainsi que d'autres facteurs. Les étapes suivantes comprennent la dégradation du brin néosynthétisé qui contient le mésappariement par des exonucléases, puis la synthèse médiée par la machinerie réplivative.

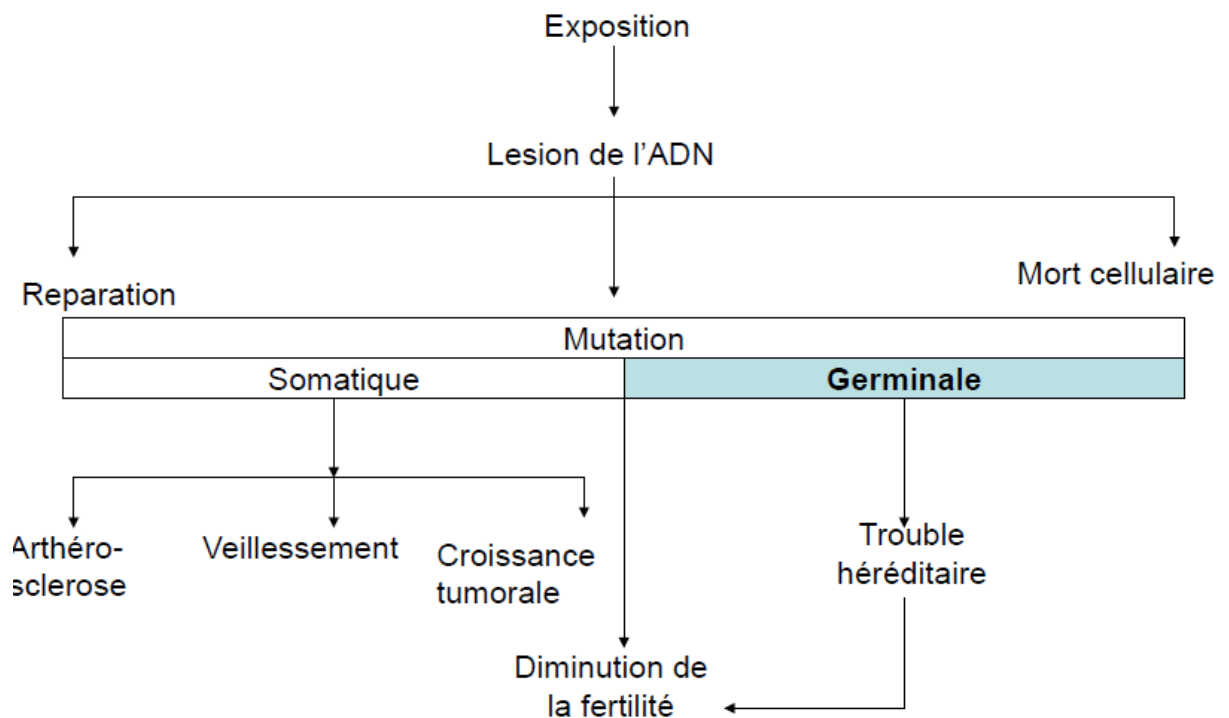


***Réparation des mauvais appariements (MMR).***

---

## 2- Conséquences des dommages de l'ADN

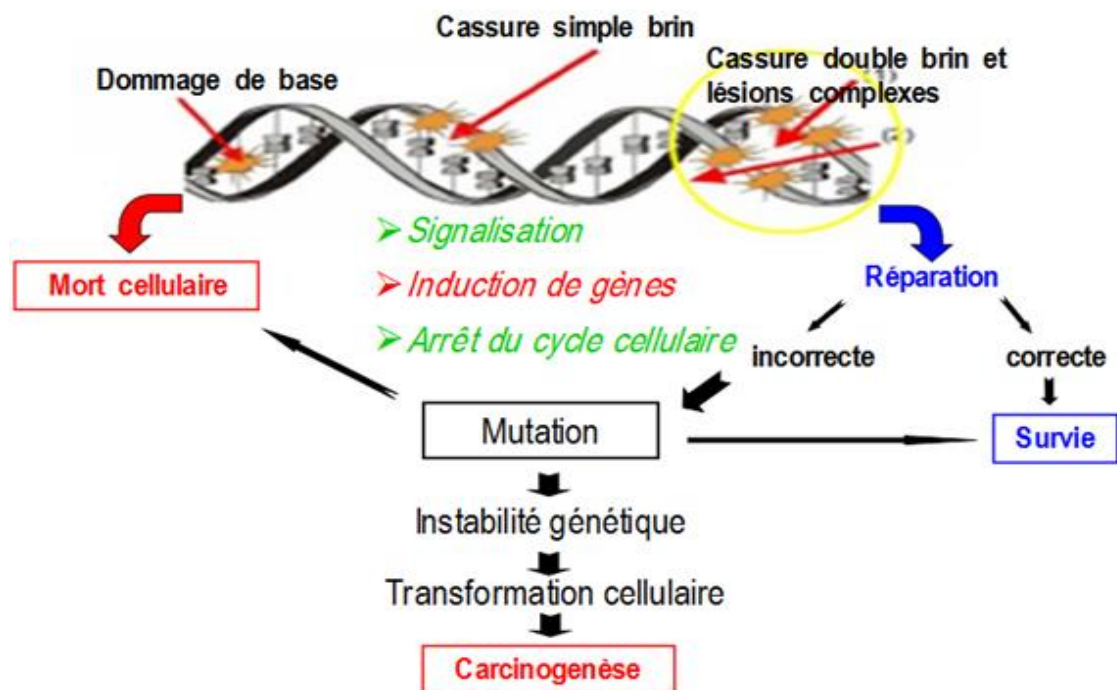
Lorsque les lésions primaires ne sont pas ou mal réparées, elles vont être fixées définitivement sous forme de mutations dans le génome de la cellule après réplication de l'ADN. Ces mutations seront transmises aux cellules filles lors de la division cellulaire. Ces mutations n'entraînent d'effets biologiques que si elles modifient la séquence ou le niveau d'expression de la protéine codée par le gène muté. Dans le cas contraire, les mutations sont dites silencieuses. Les conséquences biologiques au niveau cellulaire diffèrent selon la localisation et le type de mutations induites : de l'absence d'effets visibles à la mort cellulaire en passant par des modifications structurales et fonctionnelles de la cellule mutée.



### Processus génotoxique et ses répercussions sur la santé humaine

## 2.1- Relation mutation- cancer

Les molécules capables d'endommager l'ADN sont à l'origine d'événements moléculaires et cellulaires qui peuvent conduire au développement tumoral. Les xenobiotiques pro-carcinogènes et/ou leurs métabolites actifs affectent l'expression de gènes impliqués dans la régulation du cycle cellulaire, de la réparation de l'ADN ou de l'apoptose. Qu'elles soient génotoxiques ou non, ces molécules peuvent interférer avec la transduction des signaux et aboutir à une hypermutabilité, une instabilité génomique, une perte du contrôle de la prolifération cellulaire et une résistance à l'apoptose.



Les phénomènes de génotoxicité peuvent concerner des gènes clés du développement d'un clone de cellules tumorales. Ces gènes, classés en deux catégories, contrôlent l'ensemble des réactions métaboliques impliquées dans la progression du cycle cellulaire, soit de manière positive avec gain de fonction (oncogènes, proto-oncogènes), soit de manière négative avec perte de fonction (suppresseurs tumoraux).

- **Les proto-oncogènes** sont associés à la prolifération cellulaire; ils codent des facteurs de croissance cellulaire, des protéines de transduction ou des récepteurs

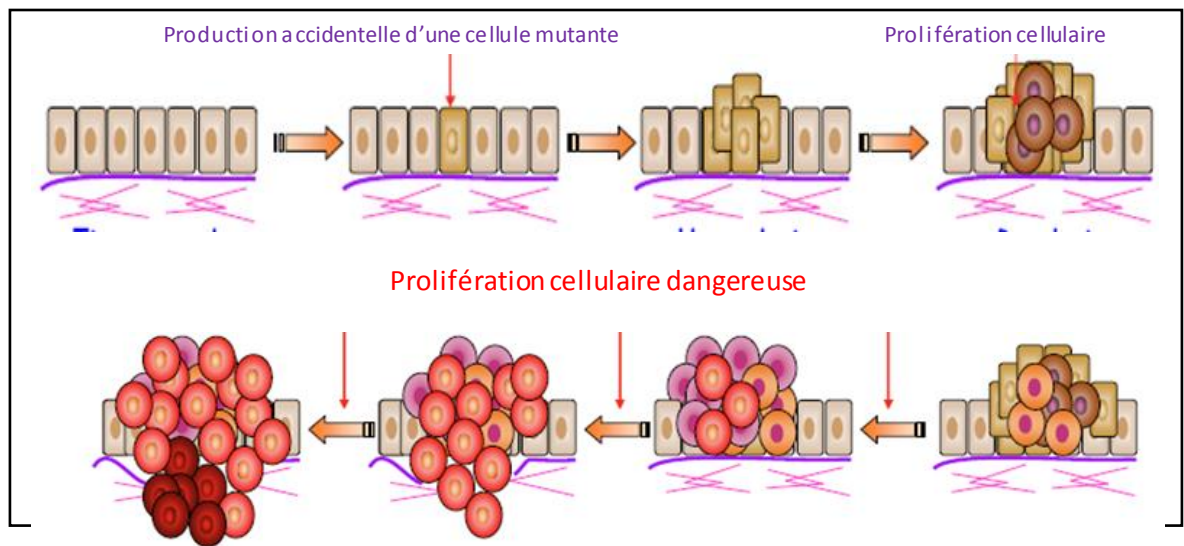
---

membranaires. Ils sont classés en quatre familles principales (protéines kinases, protéines G, protooncogènes nucléaires, facteurs de croissance). Actifs durant l'embryogenèse et les réparations tissulaires, peu actifs à l'état physiologique, ils sont activables en oncogènes par mutation sur leur partie codante ou par amplification génique résultant d'une translocation rapprochant le promoteur et l'effecteur. A titre d'exemples, *er-B* est associé au glioblastome et au cancer du sein, *er-B2* aux cancers du sein et de l'ovaire, *RET* aux cancers de la thyroïde, *Ki-ras* aux cancers du poumon, de l'ovaire, du côlon, du pancréas et des organes hématopoïétiques, *c-myc* aux leucémies, au cancer du sein, du poumon et de l'estomac, *Bcl-1* aux cancers du sein, de la tête et du cou, *Bcl-2* aux lymphomes et *MDM2* aux sarcomes.

- **Les gènes suppresseurs** de tumeurs sont associés à l'arrêt du cycle cellulaire, à l'apoptose et à la réparation des lésions de l'ADN. Activables à l'état physiologique après un dommage à l'ADN ils sont rendus inactifs par mutation dans les régions codantes, par inhibition de la transcription, par délétion ou aneugénèse. Ils sont classés en «gate keeper» et «care taker». Les gate keeper genes (*p53*, *APC*, *Rb*) sont des gènes de contrôle et de régulation de la prolifération cellulaire. Ils ont un rôle direct et majeur dans le démarrage du processus tumoral. Les care taker genes (*MSH2*, *MLH1*, *BCRA1*, *BCRA2*) sont des gènes de réparation et stabilisation du génome. Ils ont un rôle indirect dans le démarrage du processus tumoral. La transformation d'une cellule normale en cellule tumorale peut être réalisée par exemple par deux mutations successives touchant respectivement les deux allèles d'un gène suppresseur care taker ou gate keeper ou bien, dans les cas où une mutation germinale est déjà présente à la naissance sur un gène suppresseur gate keeper, une seule mutation acquise sur l'autre allèle suffit à initier le processus de transformation. Dans ce dernier cas le sujet sera prédisposé au cancer.

## 2.2- Théories du développement du cancer

Le passage d'une cellule normale à une cellule maligne suit au moins 3 étapes . A partir d'une cellule normale, on passe tout d'abord à une cellule initiée puis à une cellule tumorale et enfin à une cellule maligne, douée d'un pouvoir métastatique. La première étape est induite par des agents d'initiation, la seconde par des promoteurs de tumeurs et la dernière par des agents de progression.



**Progression tumorale.**

### **2.2.1- Initiation**

La phase d'initiation tumorale est causée par des modifications de l'ADN irréversibles qui prédisposent des cellules normales à l'acquisition de la capacité de prolifération non contrôlée et indéfinie (immortalisation) et à une évolution maligne. Ces cellules ne sont pas, à proprement parler, néoplasiques mais elles ont subi les altérations génotypiques nécessaires pour le devenir. Contrairement au génotype, ces cellules initiées présentent le même phénotype cellulaire que les cellules normales.

Après exposition à un cancérigène, les dommages occasionnés à l'ADN peuvent être réparés par des mécanismes enzymatiques spécifiques après arrêt du cycle cellulaire. Si la réparation ne peut avoir lieu (nombre de mutations ou gravité trop importants), la cellule s'engage alors dans un processus de mort cellulaire programmée (apoptose). La division cellulaire est essentielle dans cette étape car si elle se produit avant la mise en œuvre des systèmes de réparation à l'ADN, les dommages deviennent permanents et irréversibles (phase de fixation de la mutation dans le génome). L'initiation est un phénomène rapide et irréversible qui assure une descendance cellulaire parfaitement identique à la cellule mutée. A cette étape, la cellule initiée peut rester quiescente pendant une période indéfinie (allant du jour à l'année), ou alors se diviser de manière autonome et clonale. Cette division reste modérée et contrôlée.

C'est un processus additif car le développement néoplasique dépend de la dose en composé cancérigène. Ainsi, une augmentation de cette dose augmente l'incidence et la multiplicité des foyers néoplasiques résultants et diminue la période de latence de sa survenue.

---

### **2.2.2- Promotion**

La phase de promotion tumorale se caractérise par une forte instabilité génomique et correspond à la prolifération (multiplication anormale) clonale des cellules initiées.

Les promoteurs tumoraux n'interagissent pas directement avec l'ADN et peuvent déclencher des effets biologiques sans avoir été actives métaboliquement. Ils augmentent la prolifération cellulaire dans les tissus cibles (par levée du blocage du cycle cellulaire en phase quiescente ou G0), contribuent à la « fixation » des mutations, potentialisent des modifications de l'expression génique, et perturbent le contrôle de l'apoptose, processus de sauvegarde. Ils peuvent également altérer de façon indirecte l'ADN par oxydation (génération de stress oxydant). Les promoteurs tumoraux doivent être présents pendant une très longue période pour agir et leur efficacité dépend de leur concentration dans le tissu cible. Dans les études menées sur les composés cancérigènes sur de longues périodes avec des doses élevées, pratiquement tous les agents promoteurs de tumeurs peuvent induire un processus de néoplasie sans initiation. Par exemple, l'exposition au phénobarbital ou à l'arsenic aboutit au développement de lésions néoplasiques sans application préalable à des agents initiateurs.

Très généralement, la promotion est une étape réversible : après disparition du promoteur, la prolifération cellulaire peut être atténuée voire même stoppée.

### **2.2.3- Progression**

Les lésions survenant au cours des phases d'initiation et de promotion sont définies comme pré-néoplasiques. Leur transformation en lésions malignes est associée à l'une des dernières étapes de la cancérogenèse, appelée progression. Au cours de cette étape, un phénotype néoplasique est acquis via des mécanismes génétiques et épigénétiques. La prolifération cellulaire devient indépendante de la présence du stimulus. Cette phase se caractérise par l'irréversibilité, l'instabilité génétique, une croissance cellulaire très rapide, l'invasion et la capacité des cellules à métastaser, ces caractéristiques étant associées à des modifications biochimiques, métaboliques et morphologiques des cellules. L'angiogénèse est un processus essentiel à la progression néoplasique puisqu'il précède le développement des caractéristiques qui contribuent à la malignité. De nouvelles modifications inhérentes à la néovascularisation cellulaire apparaissent (fabrication de nouveaux vaisseaux) créant une interface entre la tumeur et les tissus de voisinage : le stroma. A ce stade, la dimension de la tumeur atteint quelques millimètres. L'angiogénèse se développe et les cellules cancéreuses élaborent une architecture plus complexe. Cette phase dite phase de stroma- réaction précède les métastases.

---

### 2.3- cancer et réparation de l'ADN

Le maintien de l'intégrité génétique est un processus central de la viabilité cellulaire qui est permis par un large réseau de voies de réparation. Lorsque ce système de réparation est défectueux, il génère une instabilité génomique et entraîne une accumulation d'aberrations chromosomiques et de mutations qui peuvent alors être responsables de divers phénotypes cliniques dont la susceptibilité à développer un cancer. En effet, ces défauts peuvent favoriser non seulement l'initiation du cancer, mais aussi permettre aux cellules tumorales d'acquérir rapidement des mutations pendant leur évolution.

Plusieurs syndromes de prédisposition au cancer, tels que l'ataxie télangiectasie, les syndromes de Cockayne, de Nimègue, de Werner, de Rothmund- Thomson et le syndrome de Bloom, l'anémie de Fanconi, la xérodémie pigmentaire ou la trichothiodystrophie ont permis d'apprécier l'importance de la réparation de l'ADN dans la prévention du cancer . En effet, ces syndromes, dont l'un des mécanismes de maintenance du génome est affecté, sont associés à des prédispositions à développer un cancer. Par exemple, la xérodémie pigmentaire qui est associée avec un défaut de NER présente une incidence de cancer de la peau induit par les UV multipliée par 1000 . Chacune des 5 voies principales de réparation de l'ADN (BER, NER, MMR, HR et NHEJ) a déjà été décrite comme étant impliquée dans la carcinogenèse de divers cancers chez l'Homme .

**Tableau 2: Syndromes humains présentant des défauts dans la réparations des lésions de l'ADN**

<b>Syndromes</b>	<b>Mécanismes affecté</b>	<b>Type de dommages</b>	<b>Prédisposition au cancer</b>
<i>Xeroderma pigmentosum</i>	NER	Mutations	Cancer de la peau induit par les UV
<b>Syndrome de Cockayne</b>	TCR	Mutations	Aucun
<b>Trichothiodystrophie</b>	NER/TCR	Mutations	Aucun
<b>BRCA1/BRCA2</b>	HR	Aberrations chromosomiques	Cancer du sein
<b>Syndrome des cassures de Nijmegen</b>	Réparation des CDB	Aberrations chromosomiques	Lymphome
<b>Syndromes de Ligase IV, d'Artémis, de Cernunnos et de SCID (gènes KU86/KU70)</b>	Réparation des CDB par le NHEJ	Fidélité de la recombinaison	Immunodéficience et leucémies
<b>Syndromes de Werner et Bloom</b>	HR	Aberrations chromosomiques	Cancers variés

---

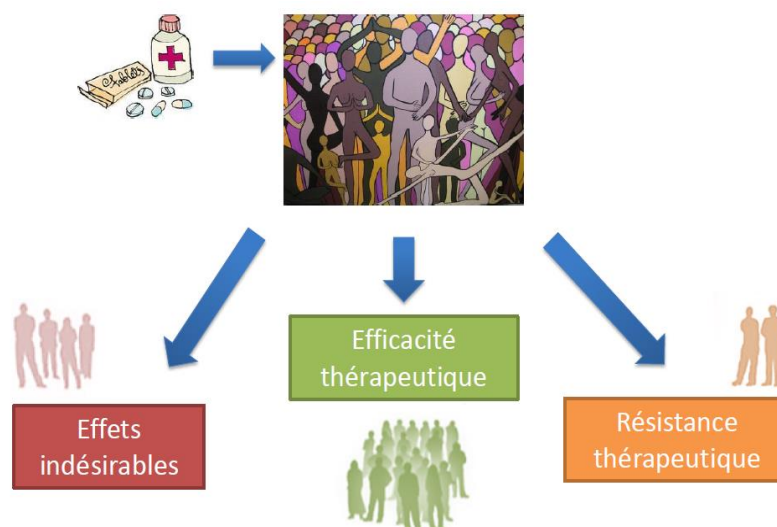
## Chapitre IV: La pharmacogénétique

### 1- Définition

Le terme de Pharmacogénétique est créé par Vogel en 1959 avec pour définition : « l'étude et le rôle de la génétique dans le métabolisme des médicaments ». La pharmacogénétique est la recherche et l'étude des mutations sur les enzymes qui transforment les médicaments. Une faible différence au niveau d'un gène peut influencer l'efficacité de l'enzyme, modifiant ainsi le traitement dans le sens de l'inefficacité ou au contraire de la toxicité.

La pharmacogénétique fait référence en réalité à deux domaines distincts : d'une part les facteurs génétiques impliqués dans les aspects **pharmacocinétiques** (héritabilité des variations interindividuelles de l'absorption, la distribution, le métabolisme et l'excrétion des traitements), et d'autre part la **pharmacodynamie** (tout ce qui a trait à l'activité biologique du traitement, essentiellement au niveau des récepteurs).

La variabilité interindividuelle dans la réponse aux médicaments constitue une problématique importante pouvant causer des effets indésirables ou l'échec d'un traitement. Les premières constatations d'une variabilité interindividuelle de la réponse aux traitements proviennent des observations d'études pharmaceutiques publiées en 1962, concernant un antihypertenseur (la désibroquine) testé à faible dose chez les sujets sains. L'un des sujets fut victime d'un collapsus du fait d'une baisse brutale de sa pression artérielle. En fait, cette hypersensibilité à la désibroquine provenait d'un déficit enzymatique conduisant à un défaut d'hydroxylation de la substance.



Concept de la pharmacogénétique

---

## 2- Polymorphisme génétique

Il existe dans le génome des êtres vivants des variations inter-individuelles dans la séquence d'ADN, appelées polymorphismes. On a montré que dans deux génomes humains tirés au hasard, 99.9% de la séquence d'ADN est identique. Les 0.1% restants contiennent des variations de séquence dont le type le plus commun est le polymorphisme pour un nucléotide (SNP Single Nucleotide Polymorphism). Chaque gène contient ainsi un certain nombre de polymorphismes. Le plus souvent, ces polymorphismes ne modifient pas le message héréditaire (polymorphisme dit neutre) soit parce qu'ils sont situés dans des régions non codantes du génome (introns), soit parce qu'ils n'entraînent pas de modification du codon. Cependant, un polymorphisme situé dans les régions codantes ou les régions régulatrices d'un gène peut avoir des conséquences fonctionnelles pour la protéine codée par ce gène en modifiant sa structure et son activité et/ou son expression.

## 3- Polymorphismes pharmacogénétiques

Un nombre important d'enzymes des phases I et II (tableaux) possèdent des gènes polymorphes. L'étude de ces polymorphismes est du ressort de la pharmacogénétique. Au sens classique, un polymorphisme pharmacogénétique correspond à l'existence d'au moins deux allèles pour un gène donné (l'un de ces allèles sera en général considéré comme l'allèle de référence), présents à une fréquence d'au moins 1 % dans une population, et associés à une différence dans la réponse à un médicament.

**Tableau: Polymorphismes pharmacogénétiques (phase I)**

Gènes	Locus	Nombre d'allèles
<i>CYP1A1</i>	15q22-24	5
<i>CYP2A6</i>	19q13.1-13.2	4
<i>CYP2C9</i>	10q24.1	3
<i>CYP2C18</i>	10q24.1	3
<i>CYP2C19</i>	10q24.1	8
<i>CYP2D6</i>	22q13.1	> 50
<i>CYP2E1</i>	10q24.3-ter	14
<i>NQO1</i>	16q22.1	3
<i>ADH2 et 3</i>	4q22	3 et 2
<i>ALDH2</i>	12q24.2	4

CYP : mono-oxygénase à cytochrome P450 ; NQO1 : NAD(P)H-quinone oxydoréductase ; ADH : alcool déshydrogénase ; ALDH : aldéhyde déshydrogénase

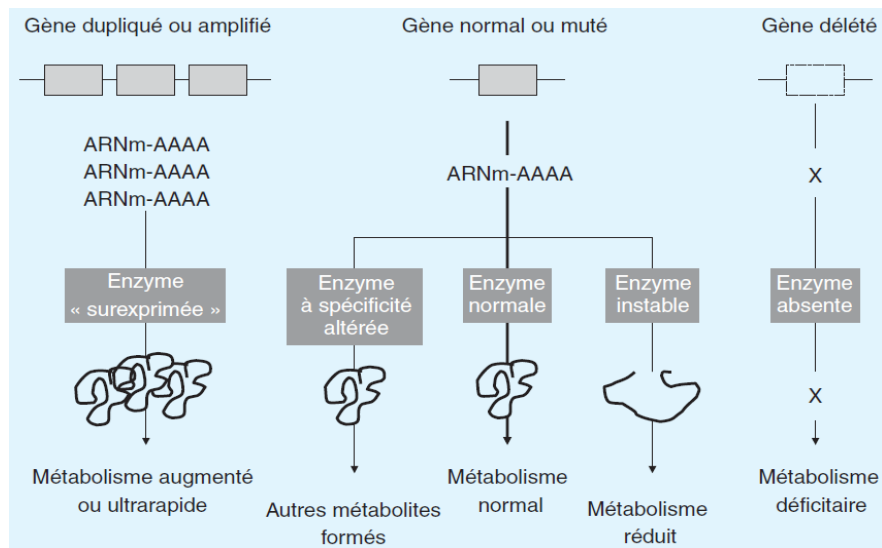
**Tableau: Polymorphismes pharmacogénétiques (phase II)**

Gènes	Locus	Nombre d'allèles
NAT1	8q21.3-23.1	24
NAT2	8q21.3-23.1	26
GSTM1	1p13.3	3
GSTM3	1p13.3	2
GSTT1	22q11.2	2
GSTP1	11q13	4
SULT1A1	16p11.2-12	3
UGT1A1	10q24.3-ter	> 30
TPMT	6p22.3	12

NAT : N-acétyl transférase ; GST : glutathion S-transférase ; SULT : sulfotransférase ; TPMT : thiopurine S-méthyl transférase ; UGT : UDP-glucuronosyl transférase

#### **4- Bases moléculaires du polymorphisme pharmacogénétique**

De nombreux polymorphismes génétiques d'enzymes du métabolisme des médicaments, que ce soient des enzymes de phase I ou de phase II, ont été identifiés. Les mutations qui affectent les gènes des enzymes peuvent être responsables de variations d'expression et/ou d'activité de ces protéines, en entraînant une diminution, voire un déficit d'activité de l'enzyme, une augmentation de l'activité ou encore une absence totale de la protéine enzymatique. Les bases moléculaires à l'origine de variations d'expression et/ou d'activité de ces enzymes sont connues. D'une part, elles se composent de microlésions (SNP, *Single Nucleotide Polymorphism*), c'est-à-dire de mutations faux sens ou de mutations ponctuelles telles que celles entraînant un décalage du cadre de lecture (ou *frameshift*) ou un codon stop, de mutations ponctuelles pouvant affecter la séquence non codante des gènes et être à l'origine d'un défaut d'épissage, ou lorsqu'elles sont situées dans la région promotrice, d'une expression de la protéine altérée. D'autre part, elles regroupent des macrolésions (comme des insertions, des délétions complètes du gène ou à l'inverse une amplification génique), regroupées sous le terme de variation du nombre de copies de gènes (CNV, *Copy Number Variation*).

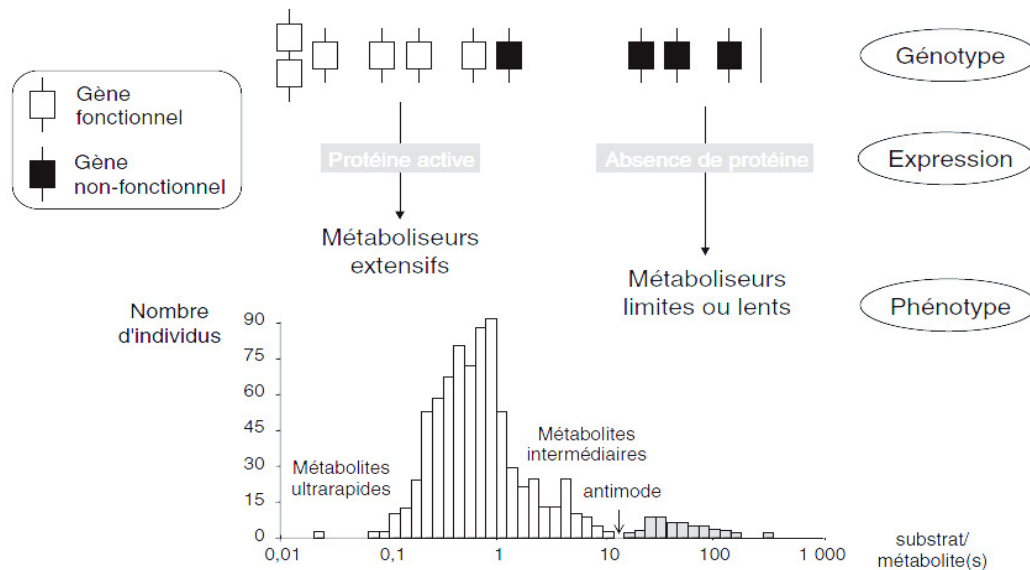


### Mécanismes moléculaires à l'origine d'une anomalie du métabolisme.

## 5- Détection des polymorphismes pharmacogénétiques

### 5.1- Le phénotypage

Le phénotypage est principalement applicable dans le domaine des polymorphismes affectant la biodisponibilité des médicaments, et en particulier leur métabolisme. Les méthodes de phénotypage reposent sur une mesure directe de l'activité enzymatique ou, le plus souvent, sur l'administration d'un substrat-test (en général un médicament), suivie d'une mesure des quantités de substrat résiduelles et/ou de leurs métabolites. Plusieurs heures après l'absorption d'une dose sub-thérapeutique du médicament-test, un échantillon biologique, urinaire ou sanguin le plus souvent, est recueilli et une quantification du substrat et de son (ou ses) métabolite(s) est réalisée à l'aide de méthodes chromatographiques. Dans le cas le plus général, on détermine alors le rapport métabolique entre la quantité de substance retrouvée sous forme inchangée et celle d'un (ou plusieurs) métabolite(s), ce rapport étant le reflet de l'activité enzymatique étudiée. La valeur du rapport métabolique permet de classer les individus en métaboliseurs extensifs ou limités par comparaison à celle de l'antimode de distribution déterminée au préalable (de façon statistique) sur une grande population d'individus.



### ***Expression phénotypique d'un polymorphisme génétique d'une enzyme du métabolisme dans la population générale.***

L'existence d'un polymorphisme génétique affectant une enzyme du métabolisme des xénobiotiques aboutit à distinguer dans la population différents phénotypes métaboliques. L'histogramme de distribution des individus en fonction de leur capacité métabolique met en évidence, dans le cas le plus général, une répartition bimodale des individus et un antimode de distribution (valeur statistique) peut être déterminé pour classer les individus. Le phénotype métaboliseur limité, dû à l'absence de protéine active, se transmet sous le mode autosomal récessif (parfois co-dominant), c'est-à-dire que les métaboliseurs limités sont, au niveau de leur génotype, homozygotes ou hétérozygotes composites pour un ou deux allèle(s) non-fonctionnel(s) du gène. Des phénotypes ultrarapides et intermédiaires sont parfois rapportés pour certaines enzymes polymorphes.

## **5.2- Le génotypage**

Le génotypage permet l'analyse des mutations génétiques fonctionnelles importantes codant pour des enzymes spécifiques. Nombreuses méthodes de génotypage permettant la prédiction du phénotype des individus ont été développées. Ces méthodes sont basées sur l'identification directe des anomalies génétiques à l'origine de la variabilité d'expression et d'activité de l'enzyme étudiée. En fait, le génotypage est désormais plus largement utilisé en pharmacogénétique que le phénotypage, puisqu'il est applicable à l'analyse de l'ensemble des polymorphismes affectant non seulement la pharmacocinétique des médicaments, mais également leurs effets (récepteurs, cibles protéiques).

Il peut être réalisé par *polymerase chain reaction* (PCR) couplée à une analyse par *restriction fragment length polymorphism* (RFLP) après hydrolyse avec l'aide d'enzyme de restriction

---

(XbaI, EcoRI) ou plus simplement au moyen de sondes fluorescentes hybridant spécifiquement chaque allèle. Il a donc l'avantage de permettre une détermination directe des informations génétique de l'individu, et comme il ne nécessite pas la prise de substrat test, il est moins invasif. Il n'est, par ailleurs, pas influencé par les interactions médicamenteuses. Le test de l'ADN est réalisé une fois pour toute la vie, les résultats n'étant pas soumis à l'influence des facteurs environnementaux. Ses limitations actuelles en pratique courante demeurent son coût et sa sensibilité, liées à l'existence d'éventuels génotypes spécifiques correspondant à des mutations encore inconnues, ainsi que l'influence de l'épigénétique. La stratégie de génotypage appliquée est fonction d'un certain nombre de paramètres, en particulier la nature des mutations à identifier (mutations ponctuelles, délétion ou amplification du gène) et le nombre de mutations à identifier pour obtenir un taux d'efficacité de prédiction du phénotype le plus élevé possible (fonction de la fréquence des polymorphismes dans la population étudiée). La stratégie adoptée tient également compte du contexte clinique dans lequel le test est prescrit, à savoir dans un cadre purement préventif avant l'introduction d'un traitement médicamenteux chez les patients à risque (phénotype non connu *a priori*) ou dans un cadre de diagnostique pour expliquer un accident iatrogène ou une absence de réponse à un médicament donné (suspicion d'un phénotype déficitaire ou ultrarapide par exemple).

## 6-Exemples de polymorphismes pharmacogénétiques

### 6.1- Polymorphisme génétique des cytochromes P450

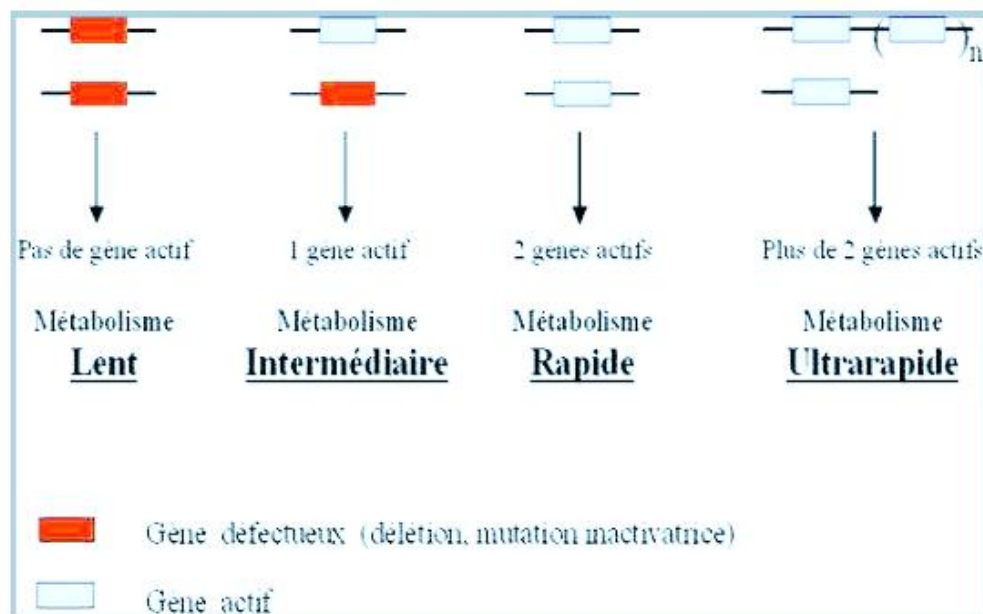
Les cytochromes P450 (CYP) sont une importante famille d'enzymes dont la principale fonction est de catalyser l'oxydation d'un grand nombre de composés organiques. Leurs substrats peuvent être des métabolites intermédiaires, des médicaments, des drogues ou des composés chimiques provenant de l'environnement. De nombreuses iso enzymes forment cette famille et sont responsables du fonctionnement de diverses voies de biotransformation des médicaments. La capacité fonctionnelle de certaines de ces iso enzymes varie selon les individus (génotype), entraînant pour chacun d'entre eux, une capacité potentielle variable d'hydroxylation ou d'acétylation par exemple, d'où la notion de polymorphisme génétique d'hydroxylation ou d'acétylation.

Quatre phénotypes en découlent :

- **Les métaboliseurs ultra-rapides** : deux gènes actifs codant pour un CYP donné ou l'expression augmentée d'un seul gène. Les patients présentant ce phénotype ne

répondent pas aux doses normales de médicaments et peuvent transformer excessivement les « prodrugs » ou former trop de métabolites toxiques

- **Les métaboliseurs extensifs ou rapides** : deux allèles fonctionnels.
- **Les métaboliseurs intermédiaires** : un gène délétère ou deux gènes partiellement délétères.
- **Les métaboliseurs lents** : deux gènes délétères. Ce phénotype expose aux risques de réactions toxiques à certains médicaments ou à l'absence d'activité de médicaments nécessitant un métabolisme.



**Phénotypes des cytochromes P450**

### 6.1.1- Le Polymorphisme génétique CYP 450 2D6

Parmi l'important système enzymatique que représentent les cytochromes P450, l'isoenzyme CYP2D6 est particulièrement étudiée, ses variations métaboliques revêtant une haute importance clinique. Le CYP2D6 est responsable du métabolisme d'environ 25% des médicaments actuellement mis sur le marché et son polymorphisme génétique affecte 50% d'entre eux. L'exemple de variabilité pharmacocinétique le mieux connu actuellement est celui du cytochrome P450 2D6 (CYP2D6). Ce polymorphisme a été mis en évidence par l'utilisation d'un anti hypertenseur : la débrisoquine. En réponse à des doses usuelles de débrisoquine, certains patients répondaient par des chutes de tension importantes alors que pour d'autres patients le médicament restait inefficace.

---

Le gène codant pour le CYP2D6 est localisé au niveau du chromosome 22, il est le siège de nombreuses mutations dont la transmission s'effectue sur un mode autosomique récessif.

Ces mutations peuvent être de deux types :

1/ le CYP2D6 peut être entièrement délété ou contenir 1 ou 2 différences, chacune affectant particulièrement l'efficacité de l'enzyme,

2/ le CYP2D6 peut être dupliqué, il existe alors au moins deux copies du gène.

En psychiatrie, environ un patient sur deux reçoit au minimum un médicament dont le métabolisme est assuré par le CYP2D6: les antidépresseurs tricycliques, la venlafaxine, les neuroleptiques classiques et la risperidone.

- Les deux allèles principalement responsables d'une abolition d'activité enzymatique métaboliseur lent (PM) sont CYP2D6\*4(défaut d'épissage) et 2D6\*5(délétion).

Les principaux effets indésirables en relation avec ce phénotype et les traitements neuroleptiques par halopéridol, perphenazine et thioridazine sont le syndrome parkinsonien et la sédation excessive ; tandis qu'aucun lien n'a pu être établi avec le risque de survenue de dyskinésie tardive, de dystonie aiguë ou de syndrome extrapyramidal .

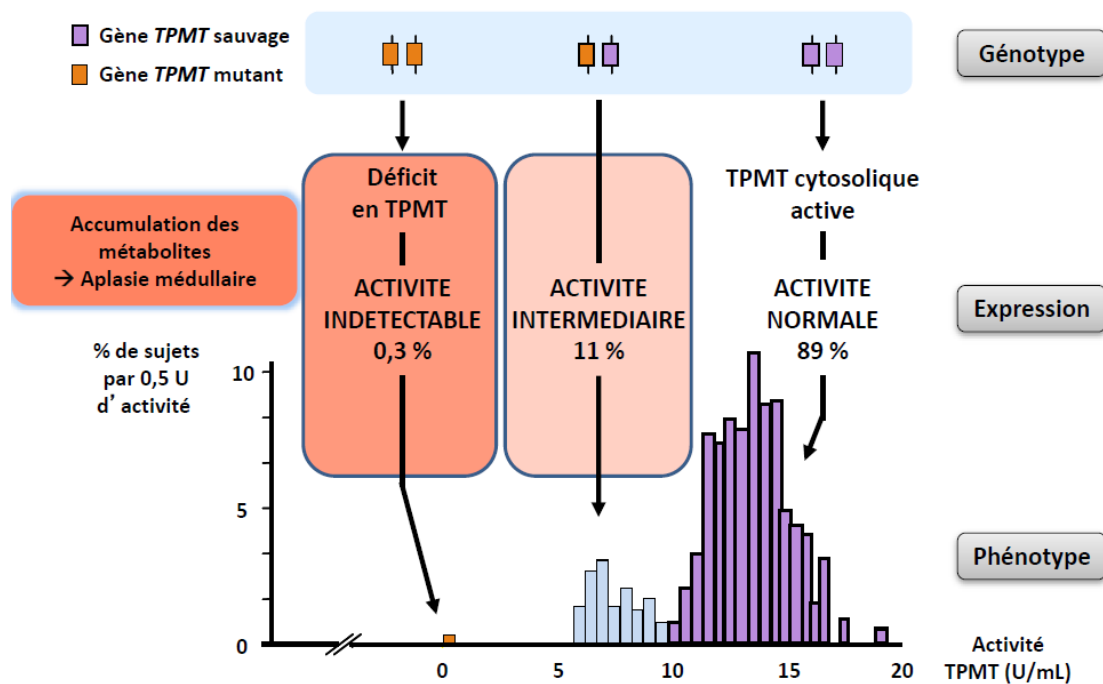
- Les allèles à l'origine d'une réduction de l'activité et du phénotype métaboliseur intermédiaire (IM) sont le CYP2D6\*10, 2D6\*41 et 2D6\*17 (substrat dépendant), résultant de défauts d'épissage.

## **6.2- Polymorphisme de la thiopurinéméthyltransférase (TPMT)**

Les médicaments thiopuriques que sont l'azathioprine(Imurel®), la 6-mercaptopurine (Purinéthol®) et la 6-thioguanine (Lanvis®) sont utilisés d'une part, pour leurs propriétés cytotoxiques dans le traitement de certaines leucémies (en particulier la leucémie aiguë lymphoblastique infantile) et, d'autre part, pour leurs propriétés immunosuppressives dans la prévention du rejet de greffe et dans le traitement de maladies inflammatoires chroniques comme la maladie de Crohn et la polyarthrite rhumatoïde.

Ces médicaments présentent un risque important de toxicité hématologique (leucopénie, thrombopénie, plus rarement aplasie médullaire parfois fatale), due à l'accumulation dans les tissus hématopoïétiques des métabolites actifs cytotoxiques de ces molécules, les thioguanines nucléotides, formés *via* la voie de l'hypoxanthinephosphoribosyltransférase. Ce risque d'hématotoxicité dose dépendante est particulièrement élevé chez les patients présentant un déficit d'activité enzymatique pour la (TPMT), enzyme impliquée dans l'inactivation des thiopurines. Une relation inverse entre la concentration intra-érythrocytaire en

thioguaninenucléotides et l'activité TPMT a en effet été démontrée. Dans la population caucasienne, 90 % des individus présentent une activité TPMT élevée (phénotype méthyleur rapide), 10 % une activité intermédiaire (phénotype méthyleur intermédiaire) et environ 0,3 % un déficit d'activité TPMT (phénotype méthyleur lent). Une dizaine d'allèles non-fonctionnels du gène de la TPMT, à l'origine d'un déficit d'activité, a été caractérisée. Le génotypage des trois mutations les plus fréquentes (238 G > C, 460A > G et 719A > G), caractéristiques des allèles *TPMT\*2*, *\*3A*, *\*3B* et *\*3C*, permet de prédire le phénotype des individus avec un taux d'efficacité d'environ 95 %, et ainsi d'identifier les individus à risque d'hématotoxicité avant l'introduction d'un traitement thiopurinique. Chez les individus déficitaires (porteurs de deux allèles mutants), il est recommandé d'ajuster la posologie du traitement en diminuant les doses de thiopurines à 5-15% des doses usuelles. Une surveillance étroite des signes de toxicité est également préconisée chez les patients au phénotype intermédiaire (génotype hétérozygote), qui présentent également un risque potentiel d'hématotoxicité. À l'inverse, certains auteurs préconisent une augmentation de la posologie usuelle des médicaments thiopuriniques chez certains patients méthyleurs rapides. Des rejets de greffe, ainsi que des échappements thérapeutiques avec rechute chez des enfants leucémiques, sont en effet plus fréquemment observés pour les patients présentant une activité TPMT très élevée et, par conséquent, sous-dosés en médicaments thiopuriniques (concentrations en thioguanine nucléotides inefficaces).



**Distribution trimodale de la TPMT**

---

## Chapitre V: Agents tératogènes et embryotoxicologie

### 1- Introduction

La tératologie est la science qui étudie les causes, les mécanismes et les patrons d'anomalies du développement. Les agents tératogènes et embryo-toxiques peuvent causer des déficiences congénitales, des anomalies, un retard de maturation ou la mort des petits animaux sans toutefois causer d'effets nocifs chez la mère. Ces agents sont habituellement détectés en utilisant des animaux de laboratoire et peuvent causer des effets similaires chez les humains.

Le terme « tératogène » est issu du grec, il provient de la fusion de deux mots : « teratos » signifiant « monstre » et « genos » pour « origine ». Un agent exogène est qualifié de tératogène dès lors qu'il est capable de provoquer des anomalies congénitales, c'est-à-dire présentes dès la naissance, en modifiant le développement normal de l'embryon et/ou du fœtus. Ces malformations sont dites secondaires . Les facteurs tératogènes sont multiples et peuvent être classés en plusieurs groupes comme suit:

- Les agents physiques (radiations ionisantes)
- Les médicaments, hormones et produits chimiques
- Les agents infectieux

### 2- Périodes de vulnérabilité aux agents tératogènes

Chez l'être humain, la grossesse dure généralement 39 semaines après la fécondation soit 41 semaines d'aménorrhée (semaines écoulées depuis le premier jour des dernières menstruations). Selon la chronologie des grandes étapes de développement, nous pouvons distinguer trois phases qu'il est indispensable de connaître pour déterminer le risque lié à l'exposition d'un médicament. En effet, les conséquences d'une prise médicamenteuse au cours de la grossesse seront différentes selon la phase de développement .

#### 2.1- Phase préimplantatoire ou segmentaire et loi du « tout ou rien »

Cette phase s'étend du jour de la pénétration du spermatozoïde dans l'ovocyte au 12ème jour qui correspond à la fin de l'implantation du blastocyste dans la muqueuse utérine. Au cours de cette phase, la loi du « tout ou rien » (mort embryonnaire ou survie sans séquelle) s'applique même si à ce jour elle n'a été validée qu'en expérimentation animale avec les radiations ionisantes . En effet, les échanges sont relativement pauvres entre la mère et

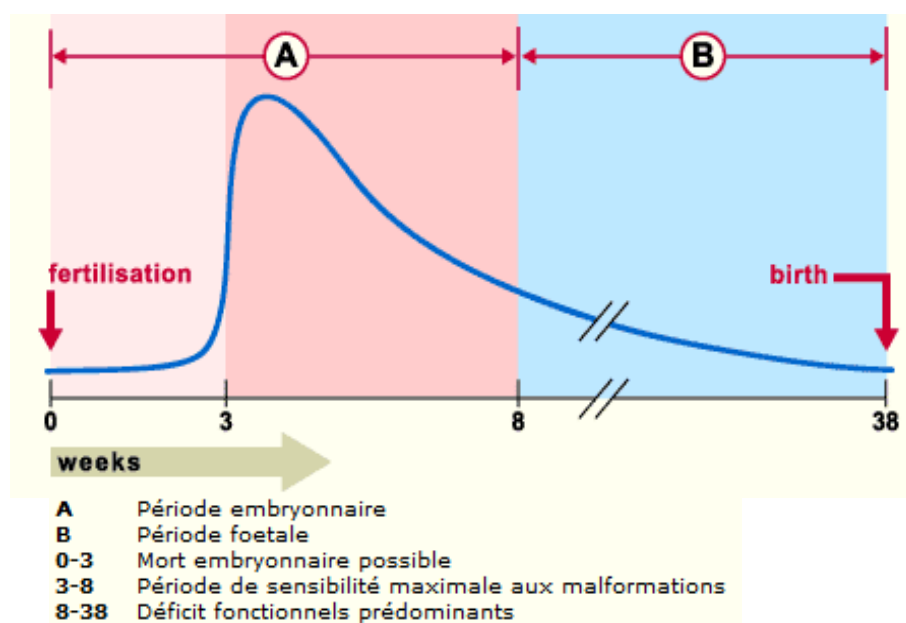
l'embryon donc les conséquences d'une exposition à un agent exogène sur l'embryon sont considérées comme très faibles. Toutefois, le risque médicamenteux reste présent car il faut prendre en compte la demi-vie d'élimination du médicament pour connaître la durée réelle d'exposition à la substance qui peut dépasser le temps de la prise. Ainsi l'exposition à un médicament dont la demi-vie est longue peut déborder sur la phase embryonnaire.

## 2.2- Phase embryonnaire et risque tératogène

Cette phase appelée aussi phase d'organogénèse s'étend de la 3ème à la 8ème semaine incluse après la conception. Au cours de cette phase, il y a formation des différents organes selon une chronologie bien définie : c'est la morphogénèse. Le risque d'anomalie morphologique est le plus important pendant cette période. La survenue d'une malformation dépendra de la molécule et du moment de l'exposition par rapport à la morphogénèse. Par exemple, un médicament connu pour provoquer des anomalies de la fermeture du tube neural n'en produira plus s'il est administré après sa fermeture (29ème jour post conception).

## 2.3- Phase fœtale et risque foetotoxique

Cette phase commence à la fin du 2ème mois de grossesse et se poursuit jusqu'à l'accouchement. La morphogénèse est quasiment achevée donc les risques sont moins importants mais existent néanmoins. Cette longue phase est marquée par la croissance, la maturation et la différenciation des organes en place. Une exposition médicamenteuse au cours de cette phase ne sera plus à l'origine d'effet malformatif sur les structures déjà formées mais pourra être responsable d'anomalies fonctionnelles réversibles ou non.



**Incidence du risque des malformations congénitales**

---

### 3- Les différents types de malformations

Lorsqu'une agression survient au cours de l'embryogénèse, elle pourra, selon sa gravité, entraîner un avortement précoce, des «malformations» gravissimes létales ou enfin donner lieu à des malformations isolées ou à un syndrome poly malformatif. Si une agression survient durant la période fœtale, on aura une fœtopathie en général non malformative, mais s'accompagnant en général d'un retard de croissance intra-utérin (RCIU).

Schématiquement, les malformations congénitales se divisent en deux groupes :

- les malformations majeures qui interfèrent avec la viabilité et la qualité de vie de l'individu (exemple : la spina bifida).
- les malformations mineures qui ont de faibles retentissements organiques et physiques (exemple : ectopie testiculaire)

tous les organes peuvent être concernés. Les malformations peuvent être isolées ou associées. On en distingue différents types.

- Les malformations cranio-squelettiques (micro- ou macroencéphalie, pied-bot, absence d'un segment de membre, etc.) sont les plus faciles à diagnostiquer.
- Les malformations neurologiques (spina-bifida, sténose de l'aqueduc de Sylvius, responsable d'hydrocéphalie, etc.) bénéficient aujourd'hui d'un diagnostic précoce, souvent prénatal.
- Les malformations cardiovasculaires (communications interventriculaires ou interauriculaires, transposition des gros vaisseaux, coarctation de l'aorte, etc.) peuvent engendrer une insuffisance cardiaque sévère.
- Les malformations digestives (absence d'un segment plus ou moins important de l'œsophage, sténose du pylore, imperforation anale, etc.) sont souvent à l'origine d'occlusions précoces.
- Les malformations pulmonaires s'expriment parfois tardivement dans la vie et sont souvent associées à des malformations diaphragmatiques.
- Les malformations urogénitales (imperforation vaginale chez la fille, valves de l'urètre postérieur chez le garçon) sont à dépister systématiquement le plus tôt possible.

---

## **4- Différents agents tératogènes**

Les agents tératogènes identifiés à ce jour ne sont pas uniquement des médicaments. En effet, des agents physiques (radiations ionisantes), chimiques (méthylmercure) et même infectieux ont été reconnus tératogènes.

### **4.1- Les agents physiques**

#### **4.1.1- Les radiations ionisantes**

Les radiations ionisantes provoquent des cassures des filaments d'ADN et perturbent sa réplication. Leur effet sur l'embryon ou le fœtus dépend de la **dose absorbée** (dose létale 150 cGy - centiGray - en dose gonade) et du stade de développement de l'embryon, respectivement du fœtus. Les observations faisant suite aux irradiations atomiques de Hiroshima et Nagasaki ont montré que les lésions intéressaient de manière privilégiée le système nerveux et les yeux avec pour conséquence un retard psychomoteur, une microcéphalie, un spina bifida cystica, des anomalies oculaires (cataracte). Il n'a toutefois jamais été observé d'anomalies cérébrales en-dessous de 50 cGy. Au regard de ces données, la dose gonade à ne pas dépasser au cours de la grossesse étant de 10 cGy. En comparaison un examen standard de radiodiagnostic délivre 2 cGy. De ce fait un examen inopiné de radiodiagnostic ne doit pas conduire à une interruption de la grossesse. Cela étant, la règle consistant à éviter tout radiodiagnostic pelvien chez la femme enceinte reste valable par mesure de sécurité.

#### **4.1.2- Ultrasons**

Les ultrasons utilisés à des fins diagnostiques sont inoffensifs par contre ceux utilisés à des fins thérapeutiques notamment dans la destruction des calculs rénaux par exemple entraînent des lésions cellulaires et sont par conséquent potentiellement tératogènes.

#### **4.1.3- Hyperthermie**

Une hyperthermie de plus de 38°C durant 24 heures pendant les trois premiers mois de la gestation augmente de façon significative le risque d'anencéphalie et de spina bifida.

## **4.2- Les médicaments, hormones et produits chimiques**

Un médicament tératogène augmente la fréquence globale des malformations ou seulement d'un type de malformation mais le risque malformatif n'est jamais de 100%. Le taux

---

d'incidence des malformations induites par les médicaments permet de différencier les tératogènes puissants des peu puissants.

#### ***4.2.1- Les tératogènes puissants***

Ce sont les médicaments pour lesquels l'incidence des malformations est très supérieure (entre 20% et 30%) à l'incidence spontanée comprise entre 2 et 3%. Ils sont formellement contre indiqués au moins les deux premiers mois et si possible au-delà (sauf indication très exceptionnelle) chez la femme enceinte ou chez la femme en âge de procréer sans contraception efficace. Leur prescription et leur délivrance se fait dans des conditions très strictes. Ce sont :

- les dérivés de la vitamine A : isotrétinoïne, acitrétine, alitrétinoïne
- l'acide valproïque et ses dérivés
- le mycophénolate
- le misoprostol
- la thalidomide
- les antimétabolites : méthotrexate, cyclophosphamide, vismodégib...

#### ***4.2.2- Les tératogènes peu puissants***

Ce sont les médicaments pour lesquels leur potentiel tératogène est certain mais ils sont qualifiés de peu puissants car, soit ils ont une incidence de malformations supérieure à l'incidence spontanée mais en restant inférieure à 10%, soit ils sont à l'origine de malformations très spécifiques sans pour autant augmenter le risque global de malformations. Ces médicaments peuvent être utilisés au cours de la grossesse pour leur bénéfice thérapeutique et en l'absence d'alternative plus sûre mais avec une surveillance anténatale accrue. Ce sont :

- le lithium
- un antithyroïdien : le carbimazole
- les anti-vitamine K (AVK) : la warfarine, la fluindione, l'acénocumarol
- certains antiépileptiques : la carbamazépine, le phénobarbital, le topiramate.

---

### ***Exemple historique de la thalidomide***

La thalidomide a été commercialisée en Europe (sauf en France) en octobre 1957 comme sédatif/hypnotique et antiémétique. Elle a été ainsi administrée chez des femmes enceintes surtout au premier trimestre de leur grossesse (période la plus sensible) là où les nausées sont les plus fréquentes. Son effet tératogène a été suspecté devant l'augmentation de malformations congénitales, dont une très rare : la phocomélie. En effet, les membres des enfants nés des mères exposées à la thalidomide ressemblaient à des nageoires de phoque. Entre 5 000 et 10 000 cas de phocomélie seraient attribuables à la thalidomide ce qui a conduit au retrait de marché de la molécule fin 1961.



**Nourrisson atteint de phocomélie**

### ***4.2.3- La vitamine A et l'acide rétinoïque***

Une attention particulière doit être accordée à la vitamine A et à ses dérivés. Le rétinol est fortement tératogène chez l'animal, mais ne semble pas être tératogène chez l'homme. En revanche, l'acide rétinoïque, couramment utilisé en dermatologie pour le traitement de l'acné grave (Roaccutane® isotrétinoïne), est responsable dans 20% des cas d'un syndrome polymalformatif associant des malformations crânio-faciales, du SNC et du système cardiovasculaire. La période critique à son exposition se situe entre la 3e et la 5e semaine.

---

#### ***4.2.4- Le diéthylstilbestrol***

Parmi les hormones, le diéthylstilbestrol est tératogène et responsable d'anomalies congénitales vaginales et de l'utérus détectées chez les femmes exposées à l'hormone in utero. Trois types de lésions sont observées: une adénose vaginale, des érosions cervicales et des crêtes vaginales transversales. Une affection plus rare, mais caractéristique chez des jeunes femmes entre 16 et 22 ans dont les mères ont été traitées, est le développement d'un adénocarcinome à cellules claires du vagin.

#### ***4.2.5- Les antibiotiques***

La prudence est de mise avec les antibiotiques notamment les **tétracyclines** (coloration des dents) et les dérivés de la **streptomycine** (lésions du 8e nerf crânien avec trouble de l'audition). La **pénicilline** peut en revanche être prescrite en cas de grossesse.

#### ***4.2.6- Les drogues***

Parmi les drogues une place particulière doit être consacrée à la **cocaïne**, consommée par un nombre préoccupant de femmes enceintes. Traversant le placenta, cette drogue peut induire une toxicomanie chez le fœtus. La consommation de cocaïne est associée à un retard de croissance, à des malformations cardio-vasculaires ainsi qu'à une mortalité et à une morbidité fœtales accrues.

### ***4.3- Métaux lourds***

#### ***4.3.1- Le plomb***

le saturnisme maternel est responsable de cas d'arriération mentale et de malformations du système nerveux.

#### ***4.3.2- Le mercure et le méthyle mercure***

Entre 1953 et 1965 il avait été remarqué dans la région de la baie de Minamata au Japon que des femmes de pêcheurs dont le régime était essentiellement constitué de poissons présentaient d'une part des troubles neurologiques et d'autre part donnaient naissance à des enfants présentant de nombreuses anomalies neurologiques.

---

#### ***4.4- Les agents infectieux viraux***

La contamination de l'embryon peut se faire soit par voie transplacentaire par l'intermédiaire de la circulation sanguine maternelle (virémie maternelle), soit par l'intermédiaire de la cavité amniotique, suite à une infection vaginale de la mère (infection verticale).

##### ***4.4.1- Le virus de la rubéole***

Le virus de la rubéole est l'exemple type de l'agent infectieux tératogène. Lors d'une primo-infection de la mère, le virus traverse la barrière placentaire et infecte l'embryon, respectivement le fœtus. Au cours du premier trimestre le risque global d'infection est d'environ 50% au cours du 1<sup>e</sup> mois, de 25% au cours du 2<sup>e</sup> mois et de 15% au cours du 3<sup>e</sup> mois. La triade de l'embryopathie rubéolique comporte: malformations cardiaques, cataracte et surdité. En outre, on observe occasionnellement une arriération mentale, une microcéphalie, une chorioretinite, un glaucome, une microphthalmie et des malformations dentaires. Le risque de malformations au cours des 2<sup>e</sup> et 3<sup>e</sup> trimestres est faible (environ 10%). Au cours de la période fœtale on observe essentiellement des surdités par malformation de l'oreille interne et des troubles fonctionnels du SNC. L'importance de la vaccination des femmes en âge de procréer est donc évidente.

##### ***4.4.2- Cytomégalovirus***

L'infection par le cytomégalovirus, est l'infection la plus commune survenant au cours de la période fœtale et touche environ 3% des femmes enceintes. L'infection est probablement létale au cours de la période embryonnaire, résultant en un avortement spontané au cours du premier trimestre. Les enfants atteints au cours de la période fœtale précoce sont asymptomatiques et identifiés grâce à des techniques de dépistage spécifiques. A partir du 2<sup>e</sup> trimestre le virus est responsable de la maladie à inclusions à cytomégalovirus qui se traduit par un retard de croissance manifeste, une atteinte du SNC (microcéphalie, atrophie cérébrale, hydrocéphalie, hypoplasie cérébelleuse, chorioretinite, atrophie optique) et enfin par une hépato-splénomégalie.

##### ***4.4.3- Herpès simplex***

L'infection par le virus de l'herpès simplex (VHS) se fait en général tardivement dans la grossesse, le plus souvent au cours de l'accouchement, lorsque la mère présente un herpès génital. Environ 50% des nouveaux-nés qui naissent par voie basse sont contaminés et 50%

---

meurent. Le recours à la césarienne constitue donc une indication absolue. L'infection fœtale se manifeste par un retard mental, une microcéphalie, une myocardiopathie, une spasticité, une dysplasie rétinienne et des lésions cutanées caractéristiques.

#### **4.4.4- Virus de la varicelle et du zona**

Le virus de la varicelle et du zona est responsable d'anomalies congénitales au cours des 4 premiers mois de la grossesse se traduisant par des cicatrices cutanées, une atrophie musculaire, une hypoplasie des membres et des doigts, des lésions oculaires et cérébrales accompagnées d'un retard mental. Le risque tératogène n'est pas prouvé au-delà de la 20<sup>e</sup> semaine.

#### **4.5- Les agents infectieux non viraux**

##### **4.5.1- La toxoplasmose**

L'agent de la toxoplasmose (*toxoplasma gondii*) est un parasite intracellulaire obligatoire infectant l'embryon par voie transplacentaire. En cas de primo-infection le risque de contamination est minime en début de grossesse et devient en revanche courant près du terme. L'infection sera évidemment d'autant plus grave qu'elle sera précoce. Au cours de la période embryonnaire les conséquences de l'infection sont très graves: lésions cérébrales (calcifications) et oculaires (choriorétinite), microcéphalie, microphthalmie et hydrocéphalie. L'infection est souvent létale au cours de la période embryonnaire.

##### **4.5.2- La syphilis congénitale**

L'agent responsable, le tréponème pâle (*treponema pallidum*), est transmis soit par contact vénérien, soit par la mère à l'embryon. Le tréponème est capable de traverser la barrière placentaire à n'importe quel moment de la grossesse. Toutefois, le fœtus ne semble menacé d'infection qu'à partir du quatrième mois de gestation. C'est la primo-infection de la mère au cours de la grossesse qui est responsable de la syphilis congénitale. Celle-ci sera d'autant plus grave que l'infection est prolongée. Le traitement adéquat par des antibiotiques (pénicilline) tue le micro-organisme, d'où l'importance du dépistage systématique pendant la grossesse. Les symptômes précoces de la syphilis congénitale non traitée se caractérisent par un retard mental, une hydrocéphalie, une surdité, une cécité, des malformations osseuses et des malformations pathognomoniques des dents (dents de Hutchinson). Les symptômes tardifs se traduisent par la triade de Hutchinson: kératite, surdité, dents en tournevis.

## **Bibliographie**

- 1- Bouliou, R. (2013). Initiation à la connaissance du médicament.
- 2- Caulin C. VIDAL Recos. (2015). Recommandations en pratique- 185 stratégies thérapeutiques. 6ème édition. VIDAL France;.
- 3- Chloé Rancoule, Alexis Vallard , Jean-Baptiste Guy, Sophie Espenel, Sylvie Sauvaigo , Claire Rodriguez-Lafrasse.( 2017). Altération de la réparation de l'ADN et cancer, Bull Cancer; 104: 962–970
- 4- Hervé Lecllet, Martine Madoux. (2012). Guide pratique de radioprotection en radiologie médicale. Sauramps médical.
- 5- Jacquet, M. and Le Gaillard, F. (2012). Biologie moléculaire du gène. Paris: Pearson.
- 6- Kaplan, J. and Delpech, M. (2007). Biologie moléculaire et médecine. Paris: Flammarion médecine-sciences.
- 7- Lacave, R., Larsen, C. and Robert, J. (2006). Cancérologie fondamentale.
- 8- Marpeau, L. (2010). Traité d'obstétrique. Elsevier Masson.
- 9- Simon Beaumont. (2010). Biologie moléculaire- UE1.Dunod-Paris.