

Apport du séquençage du génome humain à la toxicologie

La Toxicogénomique

Jean-Louis Bergé-Lefranc

Résumé

Les bases moléculaires de la sensibilité individuelle aux agents toxiques ont été récemment identifiées au niveau génétique. De très nombreuses études ont mis en relation "exposition environnemental" et "risque cancérigène" en désignant des gènes dont les polymorphismes alléliques sont le support moléculaire la variabilité individuelle. Ces gènes sont, d'une part ceux de familles multigéniques codant les produits de la réaction de détoxification, d'autre part, ceux codant les produits de réparations de l'ADN. Les séquençages à hauts débits ont montré la variabilité considérable des séquences des génomes au sein d'une même espèce, fournissant ainsi un nombre considérable de marqueurs génétiques potentiels du risque individuel. La connaissance de la séquence de la totalité des gènes dans une espèce permet d'étudier la modulation de leur expression coordonnée face à un toxique donné. L'ensemble de ces acquisitions nouvelles donne un regard nouveau sur la toxicologie, récemment nommée : toxicogénomique.

Les agents génotoxiques font partie intégrante de l'environnement des êtres vivants. Il a été suggéré que cette exposition était le moteur de l'évolution qui, en lésant les génomes, provoquait des mutations qui parfois conféraient un avantage...

Si l'exposition paraît inévitable, le niveau atteint, du fait des développements techniques et industriels au cours de ces dernières décennies, fait redouter que le résultat en soit un effet néfaste sur la santé des individus. Cette réflexion vient d'observations anciennes du risque chimique (le benzène, l'amiante) ou physique (les rayonnements ionisants, les rayonnements ultraviolets). De plus, il est clairement apparu que les développements techniques du siècle dernier ont engendré un certain nombre de nuisances pathogènes dont certaines ont été considérées comme nécessitées puisqu'il est dans le projet de certains pays dits « émergents » de les acquérir. Plus récemment,

d'autres développements techniques ont conduit à l'utilisation et au rejet dans l'environnement de produits totalement inconnus sur le plan de leurs effets sur la santé. La micro-informatique voit ses performances augmenter de manière considérable par l'utilisation de dopants des puces tel que l'Arsenite de Gallium dont la toxicité est supposée mais inconnue du fait de sa totale insolubilité dans l'eau. Les technologies dites « nanotechnologies » utilisent des molécules dont la taille est celle d'organites cellulaires. Enfin, en l'absence totale de modèle d'étude, on ne sait rien de la toxicité des rayonnements électromagnétiques dont le développement est croissant depuis l'installation du téléviseur dans les habitations jusqu'à l'apparition du téléphone portable dans la rue. En toxicologie, l'association entre l'exposition à un risque et la pathologie est une donnée difficile à définir, encore plus à quantifier, pour les raisons suivantes :

- Les modèles animaux ne sont pas parfaitement superposables avec les modèles humains. Les données propres à l'espèce humaine ne sont issues que de conditions non modélisables: suicides, empoisonnements, accidents ou faits de guerre.

- Les voies d'expositions sont variables dans l'espace (respiratoires, cutanées, ingestion etc...), dans le temps (expositions aiguës, expositions chroniques) et en quantité (exposition faibles dose, exposition forte dose)

-Enfin, et c'est peut être les deux causes principales de notre défaut de connaissances et de notre inadaptation à la prise en charge du risque : il existe le plus souvent une réponse adaptative qui est induite par l'agent toxique. Cette réponse est variable d'un individu à un autre. Cette variation définit une donnée qui est ancienne en toxicologie : la susceptibilité individuelle.

Adresse de correspondance et demande de tirés-à-part

Dr. Jean-Louis Bergé-Lefranc

Laboratoire de Biogénotoxicologie et Mutagenèse

Environnementale (EA 1784 ; IFR PMSE 112)

Faculté de Médecine, 27 Bd Jean Moulin, 13385 Marseille cdx 05.

Tel : 04 91 32 45 48 ; Fax : 04 91 32 45 72

Un projet ambitieux, né il y a maintenant plus de dix ans, a été la détermination de la séquence nucléotidique des organismes complexes ; en particulier celle de l'espèce humaine. La toxicologie actuelle bénéficie grandement des retombés de ce projet largement mené par les nord-américains et les Britanniques, en apportant la base génétique de ce qui a précédemment été nommée : susceptibilité individuelle et qu'on peut maintenant appeler susceptibilité génétique. Une autre retombé des programmes de séquençages haut débit est la mise à disposition des toxicologues d'outils nouveaux : la génomique et la protéomique. C'est ainsi que se développe actuellement une approche nouvelle en toxicologie : la toxicogénomique.

1. La susceptibilité génétique

L'essentiel des données actuelles sur les gènes de susceptibilités concerne deux grands domaines de la biologie : la réaction de détoxification et la réparation de l'ADN.

Les gènes codant les produits de détoxification

La réaction de détoxification est un processus cellulaire de métabolisation d'agents xénobiotiques qui s'effectue en trois phases. La phase 1 est une étape qui transforme un xénobiotique, le plus souvent hydrophobe, en un produit électrophile. Elle est catalysée par des protéines enzymatiques codées par une des plus grandes familles multigéniques connue : la famille des cytochromes P450 (CYPs). C'est une étape particulièrement critique, dans la réaction de détoxification, puisqu'elle transforme un produit biologiquement inactif en un produit biologiquement actif, pouvant donc interagir avec des macromolécules biologiques, en particulier l'ADN. La phase 2 de détoxification est une étape de conjugaison à un certain nombre de produits : en particulier, le glutathion (étape catalysée par de nombreuses glutathion S-transférases (GSTs) tel que GSTM1 ou GSTT1). L'étape finale est une phase d'élimination hors de la cellule. Un des acteurs le plus étudié de cette étape est le transporteur « ATP Binding Cassette » ; un ABC transporteur plus connu sous l'appellation de MDR : Multi Drug Resistance. C'est le produit qui en se sur-exprimant dans la cellule cancéreuse, lui permet d'échapper à la chimiothérapie.

Un certain nombre de variations ont été observées dans les séquences des gènes des produits de phase 1 de la réaction de détoxification (les CYP). Ces variations sont des variations ponctuelles qui

peuvent se situer dans les séquences codantes des gènes et en changer ponctuellement la lecture. Elles sont de type alléliques et n'ont pas de conséquences majeures sur la fonction de la protéine. Jusqu'à très récemment, ces variations étaient appelées "polymorphismes génétiques" pour les opposer aux "mutations" qui affectaient gravement la fonction des protéines et étaient responsables de l'apparition de pathologies. La notion de "facteur de susceptibilité génétique" est venue modérer cette conception un peu caricaturale en montrant que des variations, en principe silencieuses, peuvent être associées, de manière statistiquement significative avec certaines pathologies, en particulier cancéreuses. Nous disposons à ce jour d'un nombre important de publications scientifiques relatant ces associations statistiques, suggérant ainsi des notions d'allèles "à risques" ou inversement d'allèles "protecteurs". On peut, à ce jour, tirer les conclusions suivantes des données de la littérature scientifique:

- Si l'association est significative au niveau de la population, en revanche son informativité au niveau individuel est faible, confirmant qu'il s'agit de gènes de susceptibilité et pas de gènes de causalité.

- Globalement et à l'exception des cas particuliers décrits ci-dessous, il n'existe pas de "bon" ou de "mauvais" polymorphisme. Un même polymorphisme pouvant être "à risque" dans une situation et inversement "protecteur" dans une autre. Ceci est à mettre en relation avec le paradoxe de la phase 1 de la réaction de détoxification qui est une étape qui rend biologiquement accessible un agent xénobiotique. On peut admettre que des variations rendant cette étape plus lente ou plus rapide n'aient pas les mêmes conséquences face à des toxiques différents.

-Il ressort, d'un nombre important d'études, l'implication constante du polymorphisme de deux CYPs dans l'association au risque cancérogène en particulier, pour ce qui concerne le cancer du poumon chez les fumeurs : CYP1A1 et surtout CYP2D6. D'une manière générale il a été le plus souvent rapporté une augmentation du risque cancérogène associé aux allèles codant des produits à activité augmentée.

Les études concernant les produits de phase 2 de détoxification portent pour l'essentiel sur deux types de produits : les catalyseurs de transfert au glutathion (GSTs) et les catalyseurs de transfert à un groupement acétyl (NATs). Les gènes GSTs constituent une famille multigénique comprenant de très nombreux membres. La particularité de

cette famille est la présence fréquente d'allèles nuls dus à des délétions. Chez les caucasiens, on observe environ 40% d'homozygotie pour les allèles nuls de GSTM1 ou GSTT1. De nombreux travaux ont rapporté l'association d'une augmentation significative du risque cancérigène avec la présence des allèles nuls. Concernant les NATs, des variations ponctuelles de séquence sont à l'origine d'allèles codant des produits à activités modifiés. Il a été observé dans de nombreuses études l'association d'un risque cancérigène avec les allèles codant des produits à activité diminuée. Une observation constante est l'effet cumulatif de risque observé lors de l'association de produits de phase 1 à activité augmentée et de produits de phase 2 à activité diminuée.

Polymorphisme des gènes codant la réparation de l'ADN

Le matériel génétique est soumis à un certain nombre d'agressions plus ou moins inévitables. La plus répandue est certainement le rayonnement ultraviolet provenant du soleil. Depuis les procaryotes, les cellules végétales puis animales ont développé des systèmes de surveillance et de réparation pour maintenir l'intégrité de leur matériel génétique. Chez les eucaryotes, plus d'une centaine de produits participent à ce processus. On en connaît les acteurs principaux par des observations issues de situations pathologiques, comme la caractérisation des homologues humains des gènes de la famille RAD (DNA repair helicases) de la levure dans le cas du Xeroderma Pigmentosum. Les études réalisées pour déterminer les associations entre les polymorphismes génétiques des gènes de la réparation de l'ADN et le risque cancérigène produisent des conclusions similaires à celles portées dans le cas des gènes de la réaction de détoxification. Ici, encore, on note la présence d'associations statistiquement significatives mais d'intérêt faible à l'échelle individuelle. Des polymorphismes dans deux acteurs principaux de la réparation de l'ADN (XRCC1 et XRCC3) sont cependant retrouvés, de manière quasiment constante dans la totalité des études, comme associés au risque cancérigène. Il s'agit des polymorphismes non conservatifs pGln399Arg de XRCC1 et pThr241Met de XRCC3.

2. La génomique dans les sciences environnementales : la toxicogénomique

Le séquençage du génome humain a amené deux résultats inattendus :

- Le niveau de polymorphisme de l'ADN est beaucoup plus important qu'on pouvait le suspecter.
- Le nombre de gènes est d'environ 30.000. C'est beaucoup, mais c'est environ trois fois moins qu'on le prévoyait.

Selon les régions de l'ADN, il existe une variation ponctuelle de séquence, le changement d'un nucléotide par un autre, tout les 200 à 2000 nucléotides. Ces variations de types polymorphiques sont appelées SNP (Single Nucleotide Polymorphism). Nous disposons de banques de données, en Angleterre et au Etats-Unis qui centralisent l'ensemble des observations en les mettant à disposition de la communauté scientifique. En bref, les SNPs semblent localisés de manière aléatoire dans le génome. On les rencontre dans les régions géniques ou intergéniques. Dans les régions géniques, ils peuvent siéger dans les introns, dans les exons (ou ils peuvent changer ponctuellement la traduction) mais aussi dans les régions régulatrices des gènes. Dans de nombreux domaines de la biologie (en pharmacologie, en nutrition, en toxicologie) des programmes scientifiques sont en cours de développement afin de rechercher si les variations de type SNP sont l'explication au niveau moléculaire de l'hétérogénéité de réponse à un traitement médical, à un régime alimentaire, à l'exposition à un toxique environnemental...

La complexité de ces études est inhérente à la complexité des génomes. Il est vraisemblable que les données concernant la susceptibilité individuelle ne se limiteront pas longtemps à un ou quelques gènes et il sera nécessaire de prendre en compte un nombre important de gènes à travers des technologies de type « puce à ADN ». Ceci demande la constitution d'équipe pluridisciplinaire en toxicologie regroupant les toxicologues avec les généticiens et les bio-informaticiens.

Références

- H. Norppa: Toxicology Letters (2004) 149, 309-334
K. Olden: Toxicology (2004) 198, 19-24
M. Waters: Mutation Research (2003) 544, 349-360
<http://snp500cancer.nci.nih.gov>
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov>
<http://www.ensembl.org>

