



FACULTÉ DE MÉDECINE
DE MARSEILLE

UNIVERSITÉ DE LA MÉDITERRANÉE
AIX-MARSEILLE II



ECOSYSTEMES CONTINENTAUX
ECCOREV
ET RISQUES ENVIRONNEMENTAUX

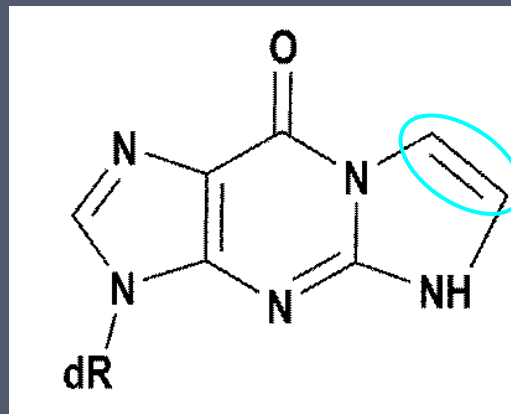
Les adduits exocycliques à l'ADN: un nouveau biomarqueur des conséquences génotoxiques du stress oxydant ?

Aurélie BONNEFOY

Journée ECCOREV FR 3098 – 29 Novembre 2010

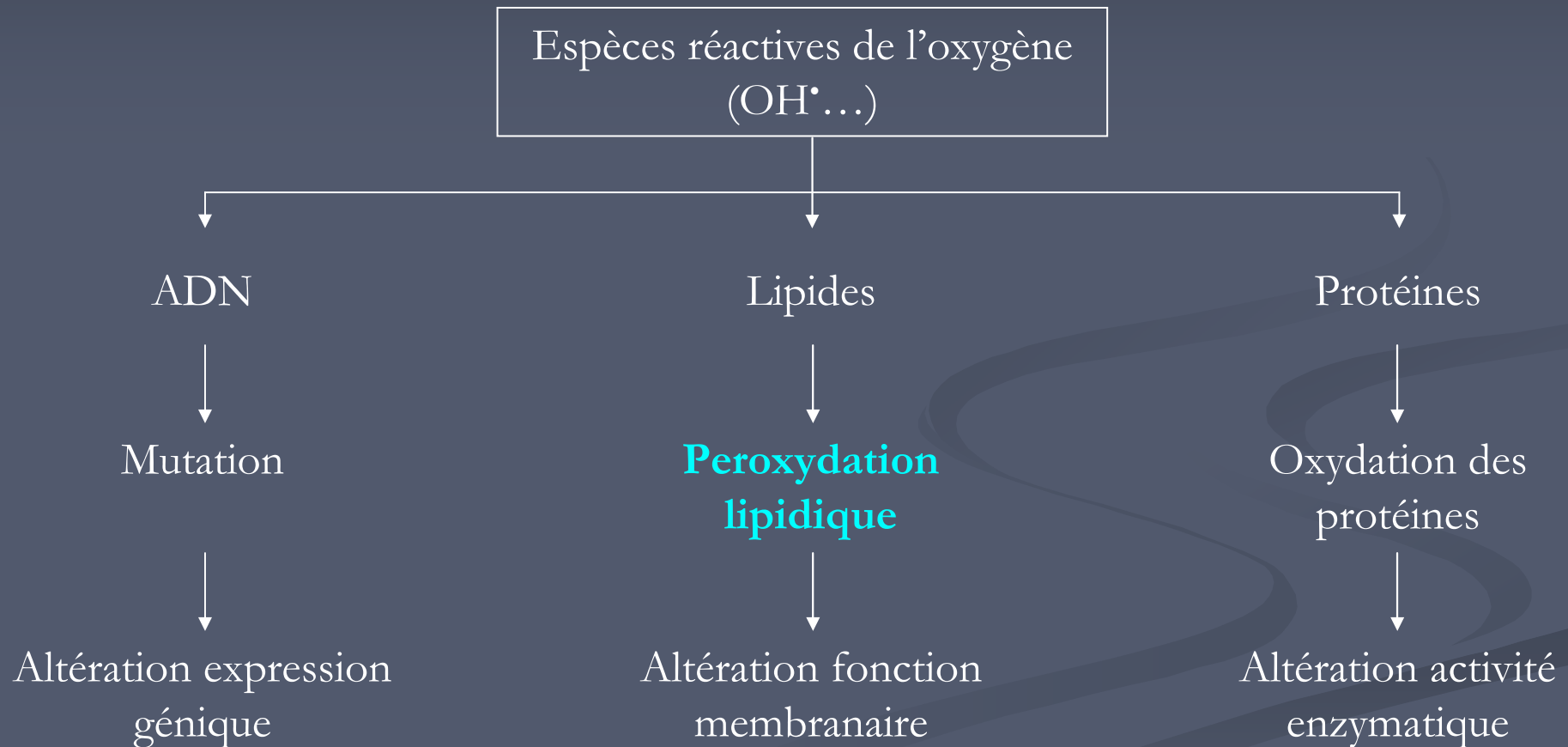
Qu'est-ce qu'un adduit exocyclique à
l'ADN ?

- Adduit: Fixation d'une molécule sur une base de l'ADN par liaison covalente
- Adduits exocycliques à l'ADN → 1971 (*Kochetkov et al.*)
- Origines:
 - Origine **exogène** (1975): Formation in vitro par les métabolites oxydés des polluants environnementaux (chlorure de vinyle)
 - Origine **endogène** (1990): Formation via les aldéhydes α,β -insaturés issus de la peroxydation lipidique provoquée par un stress oxydant cellulaire



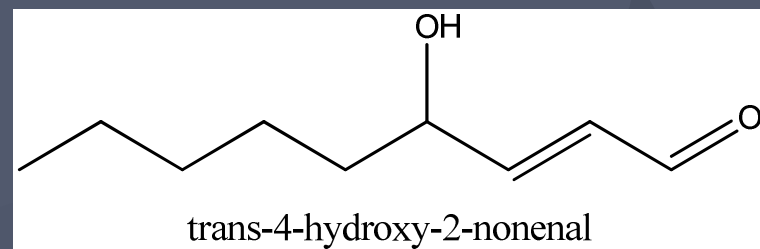
Le stress oxydant

- Déséquilibre entre la production d'espèces réactives et les mécanismes de défense et de détoxification de ces dernières



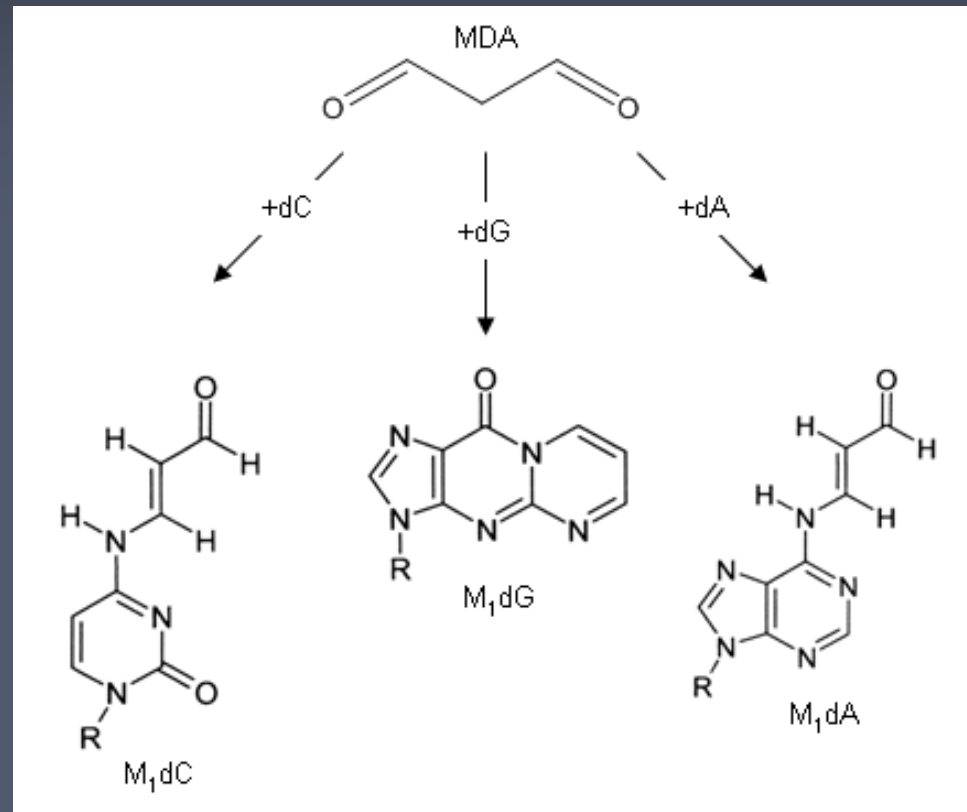
La peroxydation lipidique

- Acides gras polyinsaturés (PUFAs) des membranes cellulaires → cibles des espèces réactives
- Réaction en chaîne entraînant la production d'aldéhydes α,β -insaturés → messagers secondaires toxiques augmentant les dommages initiaux
- Aldéhydes α,β -insaturés les + réactifs vis-à-vis des bases de l'ADN → Formation d'adduits exocycliques
 - Malondialdéhyde (MDA): le + mutagène
 - Trans-4-hydroxy-2-nonenal (4-HNE): le + génotoxique

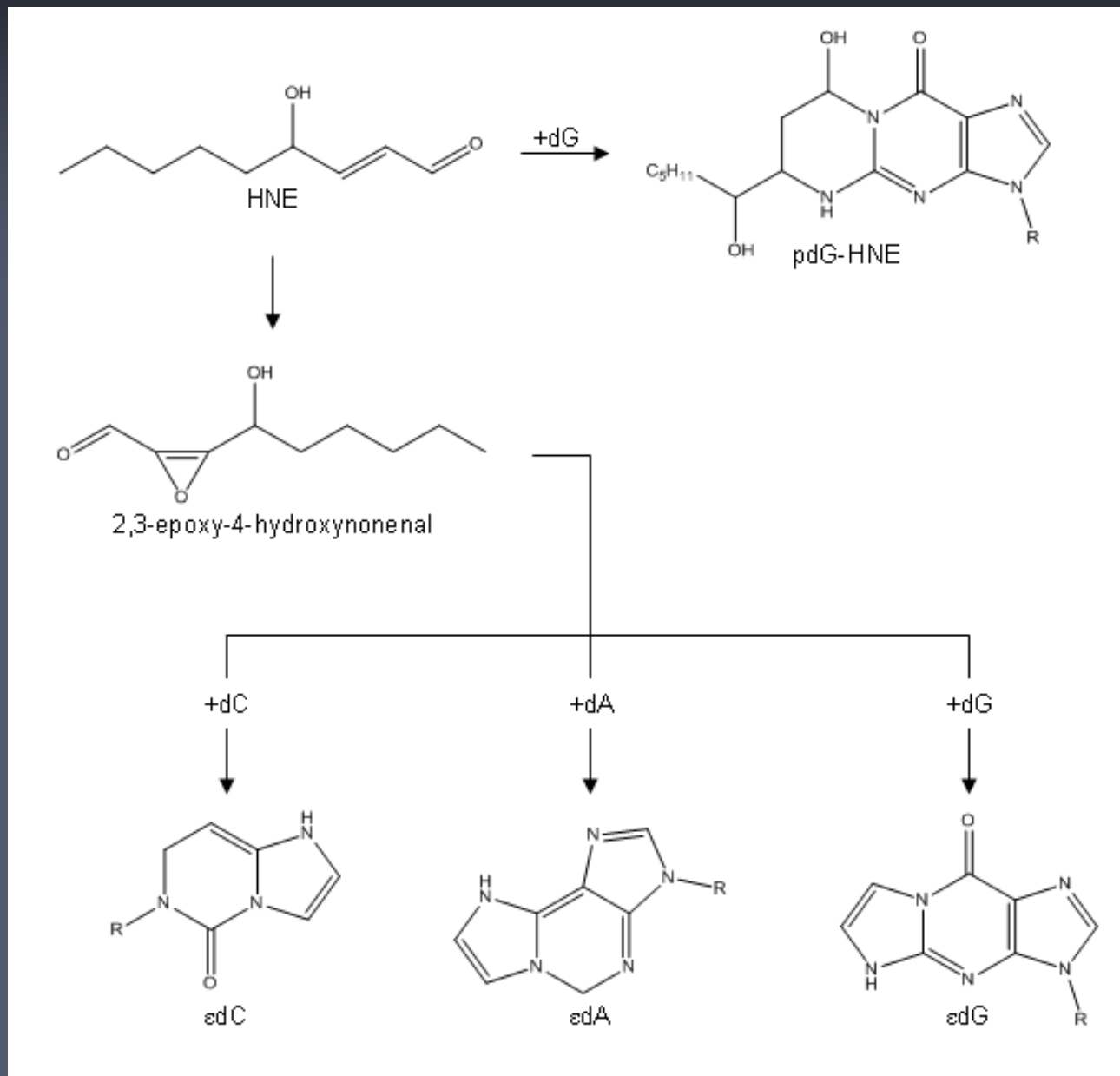


Les adduits exocycliques

Adduits formés par réaction avec MDA



Adduits formés par réaction avec 4-HNE



Méthodes de détection des adduits

- 0 – 20 lésions / 10^8 nucléotides
- Méthodes ultrasensibles pour la détection et la quantification des adduits (tissus, leucocytes, urine...)

- Immunoassays

Manque de spécificité / Utilisation de la radioactivité

- Postmarquage au phosphore 32

Sous ou surestimation des lésions

- GC-MS

Oxydation artéfactuelle des bases de l'ADN

- **HPLC-MS/MS**

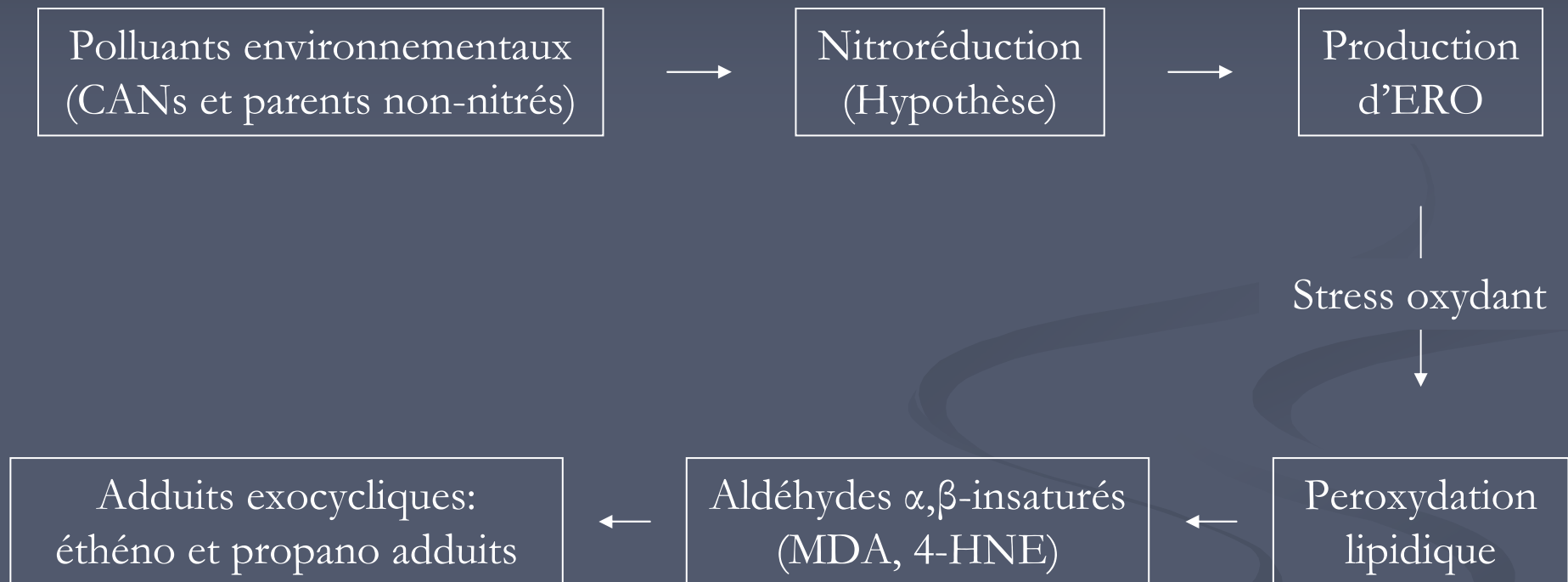
Coût d'utilisation très élevé

Processus de réparation

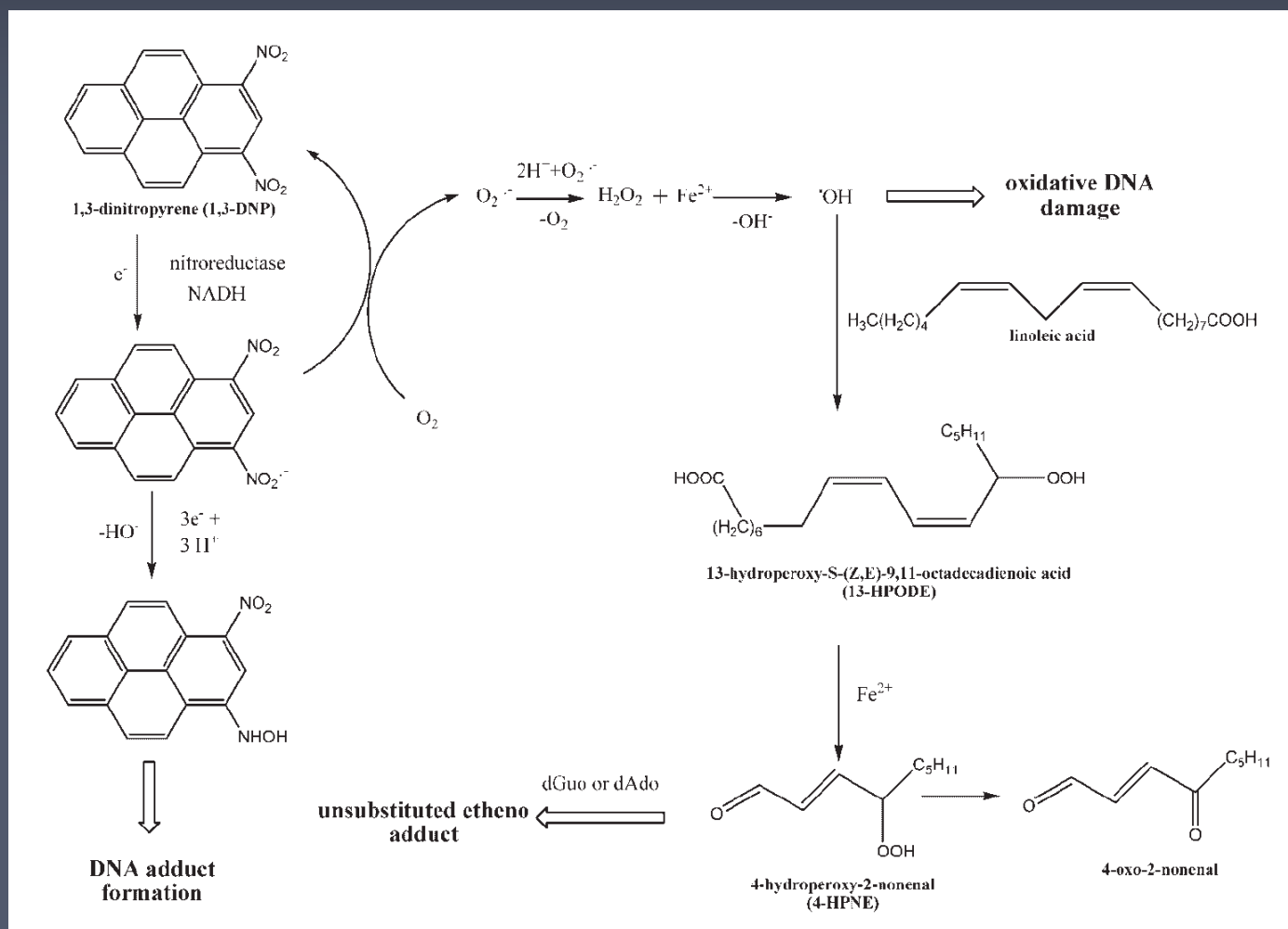
- Adduits réparés
- Adduits mal réparés ou non réparés → Origine de la Mutagenèse → Cancérogenèse
- 2 voies de réparation principales:
 - Réparation par excision de bases (BER): éthéno adduits
 - Réparation par excision de nucléotides (NER): propano adduits
- 4-HNE: inhibition des processus de réparation dans les cellules humaines (*Feng et al., 2004 et 2006*)

Lien entre adduits exocycliques et exposition environnementale

Nair et Bartsch, 1999

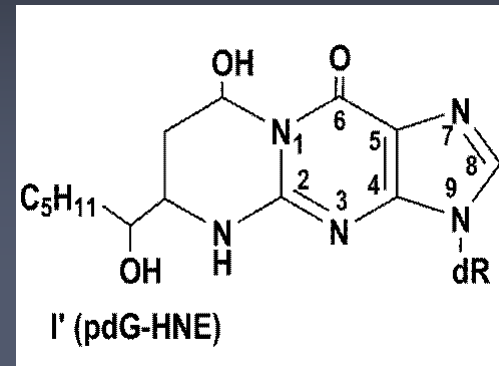
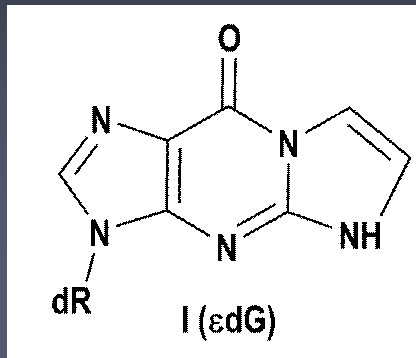


- Chiron et al. (2007): proposition d'un mécanisme de formation d'adduits exocycliques par le 1,3-DNPy en présence de nitroréductase bactérienne



Adduits exocycliques: Intérêt en tant que biomarqueur du stress oxydant ?

Stabilité des adduits (*Barbati et al., 2010*)

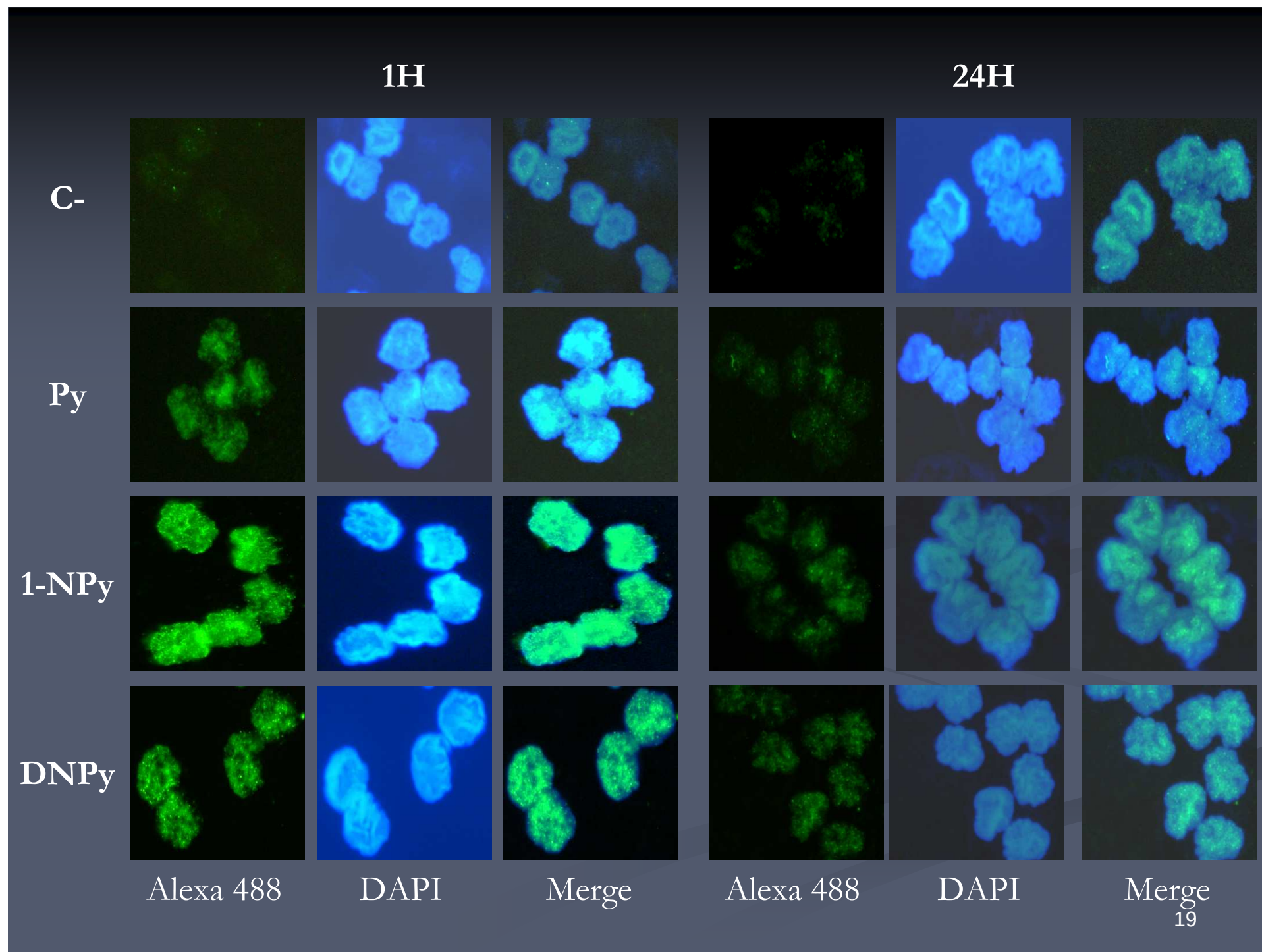


- ϵ dG plus sensible à l'oxydation *in vitro* que pdG-HNE
- ϵ dG: la base dG est conservée → altération du noyau exocyclique
- pdG-HNE: le noyau exocyclique est conservé → altération de la base dG

→ pdG-HNE: meilleur biomarqueur pour le suivi du stress oxydant

Stabilité des adduits *in vitro*

- Technique d'immunocytochimie
 - Lymphocytes humains
 - Exposition au Py / 1-NPy / 1,3-DNPy / 1,6-DNPy / 1,8-DNPy (0.5 µg/ml ; 1H et 24H)
 - C+: éthénoadénosine (200 µM)
 - Ac Iaire (monoclonal dirigé contre l'éthénoadénosine) + Ac IIaire + DAPI



- Mise en évidence de la présence et de la persistance des éthéno adduits après exposition à 5 HAPs



**ADDUITS EXOCYCLIQUES: BIOMARQUEUR DES
CONSEQUENCES DU STRESS OXYDANT**