



Analyse critique du document *Rapport final : expertise de toxicologie moléculaire des cancers observés chez les gens de la population de Shannon exposés au trichloroéthylène*

INSTITUT NATIONAL
DE SANTÉ PUBLIQUE
DU QUÉBEC

Québec 

Avis scientifique

*Analyse critique du document Rapport final :
expertise de toxicologie moléculaire des cancers
observés chez les gens de la population de
Shannon exposés au trichloroéthylène*

Direction de la santé environnementale
et de la toxicologie

Mars 2010

AUTEURS

Gaétan Carrier, médecin conseil
Direction de la santé environnementale et de la toxicologie

Pierre Ayotte, toxicologue
Direction de la santé environnementale et de la toxicologie

Ce document est disponible intégralement en format électronique (PDF) sur le site Web de l'Institut national de santé publique du Québec au : <http://www.inspq.qc.ca>.

Les reproductions à des fins d'étude privée ou de recherche sont autorisées en vertu de l'article 29 de la Loi sur le droit d'auteur. Toute autre utilisation doit faire l'objet d'une autorisation du gouvernement du Québec qui détient les droits exclusifs de propriété intellectuelle sur ce document. Cette autorisation peut être obtenue en formulant une demande au guichet central du Service de la gestion des droits d'auteur des Publications du Québec à l'aide d'un formulaire en ligne accessible à l'adresse suivante : <http://www.droitauteur.gouv.qc.ca/autorisation.php>, ou en écrivant un courriel à : droit.auteur@cspq.gouv.qc.ca.

Les données contenues dans le document peuvent être citées, à condition d'en mentionner la source.

DÉPÔT LÉGAL – 3^e TRIMESTRE 2010
BIBLIOTHÈQUE ET ARCHIVES NATIONALES DU QUÉBEC
BIBLIOTHÈQUE ET ARCHIVES CANADA
ISBN : 978-2-550-59461-1 (PDF)

©Gouvernement du Québec (2010)

TABLE DES MATIÈRES

MISE EN CONTEXTE	1
1 APPROCHE UTILISÉE DANS LE RAPPORT FINAL EXPERTISE DE TOXICOLOGIE MOLÉCULAIRE DES CANCERS OBSERVÉS CHEZ LES GENS DE LA POPULATION DE SHANNON EXPOSÉS AU TRICHLOROÉTHYLÈNE (TCE) DE CHARBONNEAU ET FINKELSTEIN (2009)	5
2 NOTIONS FONDAMENTALES DE LA CANCÉROGÈNESE	7
2.1 Définition d'un cancer.....	7
2.2 Caractéristiques communes des cancers.....	7
2.3 Pourquoi un gène mute-t-il?	8
2.4 Comment la cellule réagit-elle à ces mutations génétiques?	8
2.5 Existe-t-il des prédispositions à développer un cancer?	10
2.6 Comment évolue un cancer?	10
2.7 Diagnostic différentiel des cancers et génétique	10
2.8 Gravité d'un cancer	11
3 COMMENTAIRES	13
RÉFÉRENCES	17

MISE EN CONTEXTE

En juin 2009, le docteur François Desbiens, directeur régional de santé publique de l'Agence de la santé et des services sociaux de la Capitale-Nationale écrivait à monsieur Daniel Bolduc, alors directeur adjoint de la Direction des risques biologiques, environnementaux et occupationnels de l'Institut national de santé publique du Québec (INSPQ), en vue de demander l'assistance de l'INSPQ dans l'évaluation de l'état de santé de la population de Shannon.

Cette demande faisait suite au dépôt de deux rapports, préparés pour le compte du Regroupement des citoyens de Shannon, au palais de justice de Québec. Ces rapports pourraient être utilisés dans une cause portée devant les tribunaux :

1. Charbonneau, M. et Finkelstein, S. (2009). *Rapport final : Expertise de toxicologie moléculaire des cancers observés chez les gens de la population de Shannon exposés au trichloroéthylène (TCE)*.
2. Van Coillie, R. (2008). *Toxicologie reliée à la contamination de trichloroéthylène (TCE) dans l'eau souterraine à Shannon*.

Le docteur Desbiens demandait à l'INSPQ une appréciation globale de ces rapports et des conclusions qui y sont présentées. Il ajoutait que cette demande s'inscrivait dans le processus de collaboration impliquant nos deux organismes visant à faire la mise à jour des avis produits par l'INSPQ ainsi que l'évaluation de nouvelles méthodes d'analyse de l'état de santé de la population de Shannon.

Le présent avis porte sur l'analyse du rapport Charbonneau et Finkelstein, S. (2009). L'avis sur le rapport Van Coillie, R. (2008) est présenté dans un document séparé. Dans sa demande, le docteur Desbiens mentionne que Charbonneau et Finkelstein (2009) concluent que, sur la base de leur analyse recourant à la méthode de dépistage pathologique *Genotyping PathFinder TG*, plusieurs cancers développés par des résidents de Shannon avaient été causés par une exposition au TCE. En réalité, comme nous le verrons ci-dessous, la méthode de laboratoire de l'analyse moléculaire utilisée par Charbonneau et Finkelstein, S. (2009) et l'interprétation de cette analyse qu'ils font pour chercher à établir un lien causal entre l'exposition au TCE et le cancer sont très différentes de la méthode de dépistage pathologique *Genotyping PathFinder TG* proposée par la société RedPath Integrated Pathology en 2005 dont Finkelstein était co-auteur (Finkelstein *et al.*, 2005). En fait, la méthode d'analyse utilisée par Charbonneau et Finkelstein, S. (2009) ne semble pas avoir été baptisée. De plus, ils ne font aucunement référence à la méthode proposée en 2005.

Avant de fournir un avis sur le rapport Charbonneau et Finkelstein, S. (2009), afin de répondre à la demande du docteur Desbiens, nous allons revenir sur la méthode d'analyse de dépistage pathologique *Genotyping PathFinder TG*, ce qui nous permettra de bien illustrer les différences avec celle utilisée dans Charbonneau et Finkelstein, S. (2009).

En juin 2007, à la demande de la direction de santé publique de la Capitale-Nationale, l'INSPQ avait produit un avis scientifique (Carrier et Ayotte, 2007) portant sur cette méthode de dépistage de cas de cancers induits par le TCE proposée en 2005 par la société RedPath Integrated Pathology. Les auteurs avaient nommé cette méthode, *Genotyping PathFinder TG*.

Les auteurs de l'avis produit par l'INSPQ sur cette méthode (Carrier et Ayotte, 2007) avaient alors conclu que, scientifiquement, l'étude sur laquelle reposait l'utilisation de la méthode de dépistage, permettant de distinguer un cancer causé par une exposition au TCE d'un cancer attribuable à d'autres causes, comportait des limites majeures. Les principales limites de cette étude étaient :

1. Le faible nombre de tissus impliqués et la diversité des cancers qui avaient servi de base à l'élaboration de la méthode de dépistage proposée. Les tissus des tumeurs analysées provenaient de cinq sujets ayant été exposés professionnellement au TCE dans le passé. Les deux premiers sujets avaient souffert d'un néphrocarcinome (carcinome à cellules claires¹), le troisième sujet, d'un cancer du côlon, le quatrième, d'un cancer de la vessie et le cinquième, d'un cancer du poumon de type épidermoïde.
2. L'absence de données sur l'importance de l'exposition de ces cinq personnes au TCE.
3. L'absence d'analyse réalisée à l'aide de cette méthode sur des tissus de tumeurs prélevés chez des personnes atteintes de cancers, mais qui n'avaient jamais été exposées au TCE, sauf au bruit de fond auquel la population générale avait pu être exposée (groupe témoin).

Ce dernier point est d'autant plus important que, chez les spécialistes en épidémiologie, il existe un consensus selon lequel le seul cancer pour lequel il y a une évidence d'association avec l'exposition au TCE est le cancer du rein (Scott et Chiu, 2006; National Research Council [NRC], 2009; Shia, 2009). De plus, le cancer du rein est également le seul qui, dans les études épidémiologiques publiées à ce jour, a fait l'objet d'une analyse du taux et du type de mutations génétiques, observés chez les travailleurs exposés au TCE, comparés à ceux observés chez des individus non exposés (Brüning *et al.*, 1997; Brauch *et al.*, 1999 et 2004; Charbotel *et al.*, 2007). Les mutations analysées étaient localisées sur le gène VHL présent dans le bras court (p) du chromosome 3. Ainsi, l'inclusion de l'analyse des mutations du bras court (3p) pour les cancers du côlon, de la vessie et du poumon, provenant de personnes exposées au TCE, sans comparaison avec l'analyse de telles mutations chez des groupes non exposés (témoins), imposait, scientifiquement, une limite majeure à l'application de la méthode proposée par la société RedPath Integrated Pathology.

Il faut préciser que, dans la méthode de dépistage *Genotyping PathFinder TG* présentée en 2005 par RedPath Integrated Pathology, les concepteurs de la méthode concluaient que des altérations génétiques spécifiques, affectant trois gènes localisés sur le bras court (p) du chromosome 3, constituaient en quelque sorte une empreinte ou une signature moléculaire des altérations induites par le TCE. Les gènes touchés par ces mutations étaient le gène

¹ En anglais : *renal cell carcinoma* (RCC).

suppresseur de von Hippel-Lindau (VHL), le gène topoisomérase 2B (TOP2B) et le gène du récepteur β de l'acide rétinoïque (RAR β). Leur conclusion était basée sur l'observation d'une mutation ou d'une délétion dans la région du gène VHL au locus² 3p25.3 chez quatre sujets sur cinq (80 %), d'une délétion au locus 3p24.2 chez les cinq sujets et d'une délétion des gènes TOP2B ou RAR β au locus 3p24.3, qui précédaient temporairement le dommage au gène VHL dans tous les cas. Ils arguaient alors que, en plus de mutations sur le gène VHL, la mise en évidence de mutations ou de délétions sur les gènes TOP2B ou RAR β sur le bras court du chromosome 3 pourrait permettre de distinguer les cancers causés par le TCE de ceux induits sporadiquement par des causes inconnues (Finkelstein, Swalsky et Wilson, 2005).

Dans leur analyse des études épidémiologiques publiées, Carrier et Ayotte (2007) avaient indiqué que les mutations sur le gène VHL n'étaient pas spécifiques d'une exposition au TCE. En effet, une mutation sur ce gène se présentait sur environ 60 % des tumeurs rénales à cellules claires des sujets non exposés au TCE. Dans certaines études épidémiologiques au cours desquelles le lien entre l'exposition de travailleurs au TCE et l'incidence de cancers du rein était analysé et au cours desquelles la mutation du gène VHL était recherchée, le taux de cette mutation atteignait 75 % par rapport à un taux de 60 % chez des témoins (Brauch *et al.*, 1999 et 2004). Cependant, selon les connaissances de Carrier et Ayotte (2007), l'analyse des gènes TOP2B ou RAR β n'a été effectuée dans aucune étude épidémiologique en lien avec l'exposition au TCE.

Brauch *et al.* (1999 et 2004) avaient observé qu'une mutation sur le codon³ 454 du gène VHL était présente seulement dans les tissus des tumeurs rénales de certains sujets fortement exposés professionnellement au TCE durant des années (moyenne des expositions quotidiennes à des concentrations de 35 ppm avec des expositions sporadiques bien supérieures à 50 ppm). Par contre, cette mutation n'était pas observée dans les tissus des tumeurs des sujets du groupe témoin ou dans les tissus des tumeurs rénales observées chez des sujets exposés à des niveaux inférieurs aux normes courantes en milieu de travail. Aujourd'hui, un consensus semble se dégager parmi les spécialistes (Harth, Brüning et Bolt, 2005; Scott et Chiu, 2006; NRC, 2009). Ces derniers sont d'avis qu'un seuil minimal d'exposition au TCE est nécessaire pour qu'un cancer du rein se développe. Selon eux, le développement d'un cancer rénal associé au TCE serait précédé de dommages chroniques aux tubules proximaux du rein. Ces dommages seraient causés au cours des années par des expositions fréquentes au TCE, à des niveaux suffisants pour provoquer des épisodes pré-narcotiques. Ces observations corroborent l'hypothèse de l'existence d'un seuil sous lequel il y aurait absence d'effet cancérigène.

² Un locus est un emplacement physique précis et invariable sur un chromosome et, par extension, la carte factorielle le représentant. Un locus peut être un endroit du chromosome où se situent un gène ou plusieurs gènes mais pas nécessairement. Il ne faut pas confondre allèle et locus. Un allèle est une version d'un gène et peut se retrouver à différents endroits sur un même chromosome et aussi sur un chromosome différent (duplication et transposition). Un locus correspond à un fragment séquentiel invariant : par exemple, pour le locus 3p25.3, le 3 représente la troisième paire de chromosomes; le p indique qu'il se situe sur le bras court du chromosome et le 25.3 révèle la position exacte du locus par rapport à l'extrémité du télomère.

³ Codon : ensemble composé de trois nucléotides consécutifs reconnus par les ARNt, spécifiant l'incorporation d'un acide aminé déterminé. Le nucléotide est l'unité de construction de la chaîne d'ADN.

Ainsi, les limites importantes des données présentées par Finkelstein *et al.* (2005), pour appuyer l'utilisation de leur méthode démontrant un lien entre l'exposition au TCE et le cancer, avaient amené Carrier et Ayotte (2007) à ne pas recommander l'application de la méthode *Genotyping PathFinder TG* tant que des analyses comparatives rigoureuses avec des groupes témoins ne permettraient pas de vérifier et de confirmer l'hypothèse des concepteurs de cette méthode. Par contre, Carrier et Ayotte (2007) recommandaient de rechercher une mutation sur le codon 454 du gène VHL sur le bras court du chromosome 3, laquelle, selon les données de la littérature, semblait plus propre à une exposition au TCE : cette observation concernait seulement les tumeurs du rein. Il faut préciser que la méthode proposée par Finkelstein *et al.* (2005) a fait l'objet d'une communication scientifique, mais qu'aucun article à ce sujet n'a été publié dans un journal scientifique avec évaluation par les pairs.

1 APPROCHE UTILISÉE DANS LE RAPPORT FINAL EXPERTISE DE TOXICOLOGIE MOLÉCULAIRE DES CANCERS OBSERVÉS CHEZ LES GENS DE LA POPULATION DE SHANNON EXPOSÉS AU TRICHLOROÉTHYLÈNE (TCE) DE CHARBONNEAU ET FINKELSTEIN (2009)

Dans ce rapport, les critères de l'analyse génétique des tissus de tumeurs, provenant de sujets ayant vécu à Shannon et ayant été exposés au TCE dans le passé, diffèrent significativement de ceux proposés dans la méthode de Finkelstein *et al.* (2005).

Comme cela a été expliqué précédemment, la méthode de dépistage pathologique *Genotyping PathFinder TG* de 2005 consistait à rechercher la présence d'une mutation ou d'une délétion aux sites 3p25.3, 3p24.2 et 3p24.3 situés sur le bras court (p) du chromosome 3, qui concernaient les gènes VHL, TOP2B, RARB ou bien les trois à la fois. Les auteurs considéraient alors que la présence de ces mutations était attribuable spécifiquement à une exposition au TCE (Finkelstein *et al.*, 2005).

Or, dans le rapport de Charbonneau et de Finkelstein (2009), l'analyse toxicologique moléculaire réalisée sur les tissus (biopsies) de tumeurs malignes, tissus prélevés chez divers résidents de Shannon, porte cette fois sur la recherche d'altérations génétiques sur tout le chromosome 3. L'analyse présentée dans ce rapport cherche à identifier des mutations qui entraînent la perte d'hétérozygotisme⁴ des allèles (LOH)⁵ sur seize loci répartis sur le bras court (zone 3p) et le bras long (zone 3q) du chromosome 3. Ces seize loci sont appelés par les auteurs « marqueurs informatifs d'altérations génétiques du chromosome 3 ». Ce sont des marqueurs de microsatellites polymorphiques, qui sont hétérogènes dans la population générale, c'est-à-dire qu'ils sont hérités de chaque parent de façon mendélienne. Les marqueurs ont été évalués dans le tissu tumoral ainsi que dans le tissu sain à proximité de la tumeur. Seuls les marqueurs dont les copies héritées des deux parents étaient différentes dans le tissu sain ont été considérés comme informatifs pour l'analyse des tissus provenant de tumeurs. Par conséquent, le nombre de marqueurs informatifs peut varier d'un sujet à un autre. Une mutation sur un marqueur informatif signifie la perte d'hétérozygotisme des allèles (LOH). Il est indiqué dans le rapport (Charbonneau et Finkelstein, 2009) que les marqueurs non informatifs ne sont pas utiles pour l'analyse.

Il faut préciser que les trois loci (3p25.3, 3p24.2, 3p24.3), sur lesquels des mutations étaient recherchées dans l'approche décrite précédemment (méthode *Genotyping PathFinder TG* présentée en 2005), font partie des seize marqueurs de l'approche de 2009. Des altérations, à la fois des gènes VHL, TOP2B et RARB, étaient considérées comme une empreinte spécifique d'une exposition au TCE dans l'approche de 2005.

⁴ L'hétérozygotisme signifie la présence de deux allèles différents.

⁵ LOH : *Loss of heterozygosity*. La perte d'un allèle.

Dans le rapport de Charbonneau et de Finkelstein (2009), une nouvelle méthode d'analyse est proposée pour établir le lien causal entre un cancer observé chez un résidant de Shannon et son exposition passée au TCE. Cette méthode consiste à vérifier si le rapport du nombre de mutations d'allèles normaux observés dans les cellules tumorales sur le nombre de marqueurs informatifs identifiés sur le chromosome 3 de ces cellules, dépasse une valeur qui est un indicateur d'un cancer à un stade avancé. Ce rapport est appelé FAL (*Fractional Allelic Loss*). Le FAL est interprété comme suit : une mutation sur dix marqueurs informatifs identifiés correspond à un FAL égal à 0,1 (1/10), trois mutations sur sept marqueurs correspondent à un FAL de 0,43, alors que six mutations sur huit marqueurs correspondent à un FAL de 0,75.

Il est précisé, à la page 28 du rapport, qu'un FAL de 0,3 est suffisant pour établir une relation entre l'accumulation de mutations et des altérations phénotypiques. La valeur (0,3) est utilisée comme critère pour conclure à un lien causal entre le cancer et le TCE.

Il faut préciser que le calcul du FAL est généralement employé en clinique pour déterminer la gravité d'un cancer et formuler un pronostic en vue de prendre une décision pour mieux orienter la conduite à adopter envers le patient (chirurgie, chimiothérapie, radiothérapie, immunothérapie, hormonothérapie ou encore absence de traitement), mais non pour établir un lien de causalité avec un facteur de risque. Le rapport mentionne que l'approche employée pour chercher à déterminer une relation causale entre le cancer et le TCE est similaire à celle utilisée en clinique pour déterminer la gravité du cancer du foie et formuler le pronostic. En outre, il est indiqué que, pour le cancer du foie, un FAL > 0,3 est associé à un cancer plutôt agressif. Il est aussi précisé que, dans les deux cas, l'évaluation est faite sur la base du dommage cumulatif sur l'ADN du chromosome 3, mais que les marqueurs choisis sont différents.

Il est indiqué à la page 14 du rapport de Charbonneau et de Finkelstein (2009) que, dans plusieurs études (malheureusement non citées) chez des travailleurs souffrant d'un cancer rénal exposés à des solvants chlorés tel le trichloroéthylène, il est clairement démontré que des mutations sont induites dans une portion de la partie distale de l'exon 1 du gène VHL des cellules de ces tumeurs. Cette situation entraînerait une perte du rôle de cet important gène suppresseur. Le rapport mentionne également que de telles mutations ne sont pas constatées dans les cancers sporadiques du rein de sujets non exposés au TCE. Ainsi, les auteurs concluent qu'une mutation dans cette zone peut être utilisée comme marqueur de la présence d'un dommage induit par une substance chimique. Ce type de dommages a été recherché spécifiquement dans les tissus de sujets de la ville de Shannon, qui ont souffert d'un cancer et qui ont fait l'objet de l'étude réalisée par Charbonneau et Finkelstein (2009). Enfin, le rapport souligne qu'une mutation dans cette portion du gène serait due à l'ingestion d'eau contaminée au TCE.

2 NOTIONS FONDAMENTALES DE LA CANCÉROGÈNE

À cause de la complexité du processus de formation d'un cancer (la cancérogenèse), il apparaît important de donner quelques notions concernant les cancers, avant de commenter l'approche utilisée par Charbonneau et Finkelstein (2009).

2.1 DÉFINITION D'UN CANCER

Par définition, un cancer est une maladie résultant d'altérations (mutations) du code génétique (ADN) d'une cellule normale. La cellule est altérée par des mutations spécifiques qui lui donneront des caractéristiques qui conduiront à la formation d'un cancer. Toutes les cellules cancéreuses d'un patient proviennent d'une cellule unique. Les cancers regroupent une centaine de maladies complexes qui évoluent différemment en fonction du type de cellules impliquées. En d'autres mots, les cancers n'évoluent pas tous de la même façon. En effet, pour un même type de cancers, la variabilité de l'incidence en fonction de l'âge est grande; le taux de croissance du cancer, le pronostic et la réponse aux traitements varient significativement d'un individu à un autre. Toutefois, à l'échelle moléculaire, les cancers présentent des caractéristiques communes qui permettent de les regrouper en une seule famille de maladies.

2.2 CARACTÉRISTIQUES COMMUNES DES CANCERS

Les cancers présentent une prolifération cellulaire anormale, c'est-à-dire un taux de divisions cellulaires et la formation de métastases qui envahissent d'autres parties de l'organisme.

En fait, le cancer consiste à une prolifération désordonnée de cellules appartenant à un tissu ou à un organe. Or, la plupart des cellules de l'organisme humain (cellules de la peau, de la moelle osseuse, du tube digestif, des seins, des os, etc.) se renouvellent constamment à des rythmes qui varient selon les tissus, l'état de santé de la personne, le taux de réparation d'un tissu altéré par la maladie, etc. Il existe des mécanismes biologiques empêchant que cette prolifération normale ne devienne excessive. Les cellules cancéreuses sont des cellules qui ont perdu la capacité d'être soumises aux contrôles normaux de la croissance cellulaire. En outre, les cellules cancéreuses acquièrent le pouvoir de migrer et d'envahir des tissus ou des organes différents du tissu ou de l'organe dont elles sont issues.

- Les principaux gènes concernés par la cancérogenèse sont les protooncogènes et les gènes suppresseurs. Ces gènes contrôlent le cycle cellulaire : la réplication de la cellule et son taux de division, la réparation des lésions de l'ADN au moment de sa réplication et la mort cellulaire programmée, l'apoptose⁶. Ils contrôlent également le taux de croissance normal d'un tissu ou d'un organe.

⁶ L'apoptose est un phénomène naturel régulé par des gènes précis, qui vise à éliminer certaines cellules de l'organisme par mort cellulaire programmée. Le blocage de l'apoptose aboutit à une prolifération cellulaire non contrôlée.

- Les protooncogènes, lorsqu'ils sont activés ou surexprimés, induisent des signaux de prolifération cellulaire. Ainsi, il arrive que, à la suite de mutations dans ces gènes, des protéines non fonctionnelles soient formées. Ces protéines ne peuvent remplir leur rôle de régulatrices de la reproduction cellulaire, de la différenciation cellulaire ou bien de ces deux fonctions (chaque type de cellules a une fonction particulière).
4. Les gènes suppresseurs ou antioncogènes de tumeurs sont les gènes qui ont pour fonction de freiner la prolifération cellulaire. Lorsqu'ils sont inactivés par une mutation par exemple, ils n'exercent plus leur rôle de régulateurs négatifs.

Ainsi, il existe à l'état normal un équilibre entre l'expression des protooncogènes et des gènes suppresseurs de tumeurs. Des mutations successives non réparées de ces gènes peuvent contribuer à rompre cet équilibre, ce qui entraîne une prolifération excessive des cellules qui formeront une tumeur.

2.3 POURQUOI UN GÈNE MUTE-T-IL ?

On connaît plusieurs raisons à ces mutations génétiques. La cellule commet une erreur au moment de sa division (appelée *mitose*). Pour transmettre son capital génétique à ses deux cellules filles, une cellule doit faire une copie de son ADN (réplication). Des erreurs de copie surviennent fréquemment, mais, la plupart du temps, elles sont réparées immédiatement. Klug, Cummings et Spencer (2006) mentionnent que l'organisme humain subit environ 10 000 lésions de l'ADN par jour attribuables à l'action des radicaux libres oxygénés. En effet, les enzymes de réparation de l'ADN réparent avec succès la plupart des dommages, mais, parfois, certaines lésions peuvent conduire à des mutations non réparées. Si la cellule ne subit pas l'apoptose, les erreurs seront transmises aux cellules filles qui, dès lors, seront porteuses de la mutation génétique.

Toutefois, la plupart des mutations sont produites spontanément lors de la réplication de la chaîne d'ADN au moment de la division cellulaire. Certaines des mutations sont causées par l'environnement dont les principaux facteurs sont les radiations naturelles (rayons X, gamma, ultraviolets), les éléments oxydants contenus dans les aliments, les virus et les produits chimiques. En général, les substances chimiques ne sont pas directement la source de l'induction de mutations génétiques. Ce sont plutôt les métabolites, ces molécules qui résultent de la biotransformation normale des substances chimiques, qui induisent des mutations : le métabolisme normal de substances toxiques génère des métabolites réactifs oxydants ou alkylants pouvant endommager l'ADN et induire des mutations.

2.4 COMMENT LA CELLULE RÉAGIT-ELLE À CES MUTATIONS GÉNÉTIQUES ?

Les cellules possèdent plusieurs points de contrôle, qui surveillent la progression de la cellule au cours du cycle cellulaire. Ainsi, lorsqu'une division cellulaire est entamée, la taille et l'intégrité de l'ADN, sa réplication et la formation des éléments cellulaires nécessaires à la production de deux cellules provenant de la cellule initiale sont vérifiées par divers gènes spécifiques. Si elle ne peut pas réparer une erreur, la cellule pourra s'autodétruire (*apoptose*). Si les erreurs (les altérations) sont trop nombreuses ou si les contrôles sont également lésés, les cellules anormales se multiplieront et formeront une tumeur.

L'induction d'un cancer dans un tissu donné nécessite la présence de plusieurs mutations différentes et spécifiques de ce cancer (Klug *et al.*, 2006; Schinzel et Hahn, 2008). Selon Klug, *et al.* (2006), de quatre à six mutations sont requises. L'apparition de chaque mutation non réparée est le fait du hasard. La présence de mutations spécifiques non réparées d'un type de cancers particulier augmente avec le temps (les mutations non réparées s'accumulent dans les cellules qui continuent de se répliquer) et avec le degré d'exposition à divers facteurs (internes et externes) capables d'induire des mutations. C'est ce qui explique qu'un cancer prend plusieurs années à se former et, qu'à l'exception de quelques types de cancers observés chez les enfants, l'incidence des cancers augmente significativement avec l'âge. Par exemple, selon les données de l'American Cancer Society (pour tous les cancers confondus des États-Unis), la probabilité de développer un cancer entre l'âge de 40 et de 59 ans est de 1 sur 12 pour l'homme et de 1 sur 11 pour la femme, alors que cette probabilité est respectivement de 1 sur 3 et de 1 sur 4 entre l'âge de 60 et de 79 ans. Pour les cancers du groupe « côlon, rectum », ces probabilités passent de 1 sur 124 (hommes) et de 1 sur 149 (femmes) entre l'âge de 40 et de 59 ans à 1 sur 29 et à 1 sur 33 entre l'âge de 60 et de 79 ans.

Selon Klug *et al.*, (2006) une cellule qui perd uniquement le contrôle de sa prolifération en se multipliant engendre une masse circonscrite causant une tumeur bénigne.

Toujours selon ces auteurs, il existe de multiples étapes et mutations pour aboutir à la conversion d'une tumeur bénigne en une tumeur maligne. Ceci se produit lorsque la cellule perd également ses propriétés de communication avec l'extérieur, suivant des mutations sur des gènes qui contrôlent ces communications.

Dans toute cellule cancéreuse, les gènes dont le rôle est de réparer les mutations qui surviennent lors de la réplication cellulaire (spontanément ou due à la présence d'un cancérogène mutagène) peuvent être endommagés directement par une mutation non réparée, ou encore leur fonctionnement peut être altéré par une régulation anormale attribuable à un autre dommage génétique ou épigénétique. Par exemple, le gène suppresseur de tumeur *p53*⁷, mis en cause dans plusieurs cancers, code un facteur transcriptionnel capable de réguler le cycle cellulaire, la réparation de l'ADN et l'apoptose⁸. Une mutation du *p53*, qui engendre une perte de la fonction régulatrice, peut entraîner la formation d'un cancer.

⁷ Le gène *p53*, qui synthétise la protéine *p53*, est situé sur le bras court du chromosome 17 en position p13.1. La protéine *p53* est une phosphoprotéine de 393 acides aminés de poids moléculaire 53 kDa. On la trouve en très petite quantité dans les cellules normales, mais en abondance dans les cellules tumorales. Cette protéine joue deux rôles dans les cellules, soit l'arrêt du cycle cellulaire entre la phase G1 et la phase S, soit la mort cellulaire par apoptose.

⁸ L'apoptose ou mort programmée peut être interprétée comme la solution préférentielle pour l'organisme quand la réparation de l'ADN n'est pas possible.

2.5 EXISTE-T-IL DES PRÉDISPOSITIONS À DÉVELOPPER UN CANCER?

Certaines mutations sont propres à un type de cancers. En effet, il existe des mutations héréditaires reconnues prédisposant les individus qui en héritent à développer un cancer. Cela est le cas pour les personnes atteintes de la polypose adénomateuse familiale. Ces personnes héritent, de leurs parents, d'un allèle mutant du gène APC, qui les rend davantage susceptibles de développer un cancer du côlon. En revanche, les sujets qui ont hérité de mutations dans les gènes BRCA1, BRCA2 ou bien dans les deux gènes à la fois ont une prédisposition à développer un cancer du sein. Ces personnes possèdent déjà une des mutations nécessaires à la formation de ces cancers, ce qui les rend plus susceptibles, statistiquement, de développer un cancer par rapport aux personnes qui ne possèdent pas déjà ces mutations dans leurs gènes.

Toutefois, les cancers héréditaires comptent pour moins de 5 % de tous les cancers (Académie Nationale de Médecine - France *et al.*, 2008).

2.6 COMMENT ÉVOLUE UN CANCER?

Pour qu'une cellule devienne cancéreuse, elle doit perdre sa capacité à réparer les mutations qu'elle subit (les gènes impliqués dans cette réparation subissent donc une mutation non réparée). Par conséquent, plus un cancer est à un stade avancé, plus le nombre de mutations augmentera dans sa chaîne d'ADN. Des mutations finiront par se retrouver dans plusieurs gènes qui appartiennent à tous les chromosomes de cellules cancéreuses. Ces cellules constituent la tumeur maligne (le cancer local avec ses métastases).

2.7 DIAGNOSTIC DIFFÉRENTIEL DES CANCERS ET GÉNÉTIQUE

De nouveaux outils de diagnostic médical différentiel apparaissent dans le domaine de la génétique appliquée à l'oncologie. Par exemple, une équipe de chercheurs français et américains a conçu un test de détection moléculaire décelant les signatures moléculaires qui permettent de différencier trois types de tumeurs de la thyroïde : d'un côté, les adénomes folliculaires bénins, de l'autre, deux tumeurs malignes, soit les carcinomes folliculaires et papillaires (Chevillard *et al.*, 2004). Ces signatures, obtenues grâce à l'utilisation de puces à ADN, permettent de réaliser un diagnostic, aujourd'hui parfois délicat, et d'adapter en conséquence les traitements, selon le type de tumeurs (bénigne ou maligne).

Cependant, en lisant les résultats de cette recherche, on constate que, pour différencier un type de cancers de la thyroïde, l'analyse d'une quantité phénoménale de gènes s'est avérée nécessaire. Donc, l'analyse a été faite avec des puces à ADN préparées sur la plateforme de production fournie par Genethon (Evry, Service de génomique fonctionnelle – France). Ces puces comportent 5 760 sondes d'ADN, qui correspondent à environ 4 800 gènes dont 50 % codent pour une fonction connue.

Des hybridations différentielles entre les gènes exprimés par chacun des trois types de tumeurs et ceux exprimés par une glande thyroïde normale ont été réalisées. Les résultats obtenus ont montré qu'il existait des différences d'expression de gènes entre une thyroïde normale et une thyroïde cancéreuse. Les résultats ont permis aussi de définir des signatures

moléculaires pour distinguer les différentes tumeurs. Ainsi, 155 gènes ont été utiles pour les diagnostics : 80 d'entre eux distinguent les adénomes folliculaires des carcinomes folliculaires, 23 différencient les adénomes folliculaires des carcinomes papillaires et 52 séparent les carcinomes folliculaires des carcinomes papillaires.

Quel que soit le type de tumeurs (bénigne ou maligne), les résultats de cette recherche démontrent clairement que le nombre de mutations est très élevé. Ce qui vient corroborer l'énoncé présenté au point précédent (point 2.6).

2.8 GRAVITÉ D'UN CANCER

La gravité d'un cancer dépend de divers facteurs tels le type de cellules touchées (des cellules peu différenciées par rapport à des cellules plus différenciées) et le type de gènes qui ont été mutés de façon permanente. Or, chaque mutation non réparée étant le fait du hasard, la gravité du cancer dont une personne souffre est également le fait du hasard. C'est la raison pour laquelle, dans la population, certains cancers de même type présentent un meilleur pronostic que d'autres et répondent mieux à certains traitements.

3 COMMENTAIRES

1. Finkelstein *et al.* (2005) considéraient que la présence de mutations sur les loci 3p25.3, 3p24.2 et 3p24.3 correspondait à une empreinte spécifique d'une exposition au TCE.

À l'analyse des données présentées dans la table 5 de la page 46 (rapport de Charbonneau et de Finkelstein, 2009), il est possible de constater qu'aucun sujet ne présentait de mutations sur ces trois loci.

2. Charbonneau et Finkelstein (2009) affirment qu'une mutation de l'ADN, sur une portion de la partie distale de l'exon 1 du gène VHL, décelée sur les cellules d'un cancer du rein n'est observée que chez des sujets exposés au TCE et non chez les autres.

Parmi les résidants de Shannon dont les tissus de tumeurs ont été analysés, trois sujets ont souffert d'un cancer du rein. Un sujet a vécu dans la zone rouge et deux, à l'extérieur de cette zone. Parmi ces trois personnes, seul un des deux sujets résidant à l'extérieur de la zone rouge présentait une mutation sur une portion de la partie distale de l'exon 1 du gène VHL, soit sur le codon 95. Mis à part ces tissus, tous les autres tissus de tumeurs analysés provenaient de personnes ayant développé d'autres cancers, et aucune mutation n'a été observée dans ces tissus sur la partie distale de l'exon 1 du gène VHL.

Il faut préciser que, selon les connaissances des auteurs du présent avis, seule une mutation sur le codon 454 a été associée à une exposition au TCE, dans les études publiées à ce jour. Malheureusement, Charbonneau et Finkelstein (2009) n'indiquent pas, dans le rapport qu'ils ont rédigé, leurs sources. Cette indication permettrait d'établir un lien entre une mutation sur le codon 95 ou sur tout autre codon appartenant à la portion de la partie distale de l'exon 1 du gène VHL.

3. VHL et cancers du rein

Le gène VHL est fréquemment altéré dans les tumeurs rénales chez l'humain, spécialement dans les phénotypes à cellules claires (Brauch *et al.*, 1999 et 2004; Shiao, 2009). Des mutations sur le gène VHL sont observées chez des sujets exposés et des sujets non exposés au TCE. Il faut rappeler que dans certaines études épidémiologiques où le lien entre l'exposition de travailleurs au TCE et l'incidence de cancers du rein était analysé et la mutation du gène VHL était recherchée, le taux de cette mutation allait jusqu'à 75 %, comparativement à un taux de 60 % chez des témoins (Brauch *et al.*, 1999 et 2004). Ces observations montrent qu'une mutation sur le gène VHL est loin d'être spécifique à une exposition au TCE.

Le VHL est connu comme étant un gène suppresseur de tumeurs. Shiao (2009) mentionne qu'il existe une banque de données universelle de mutations (*Universal Mutation Database*) gérée par Beraud *et al.* (2007). Dans cette banque de données sont compilées les mutations du gène VHL relatives aux cancers rénaux sporadiques du monde entier. La banque montre notamment que les mutations faux-sens⁹ représentent 34 % de toutes les mutations, la majorité (66 %) étant des mutations non faux-sens.

Lorsque seules des mutations faux-sens ont été déterminées, l'altération du nucléotide¹⁰ G:C par A:T était prévalente (27 %) par comparaison avec les autres changements. Shiao (2009) indique que ce type d'altérations est surtout attribuable à un changement produit par des nitrosamines présentes dans la fumée du tabac, dans certains diurétiques ainsi que dans certains aliments tels que les viandes et les poissons fumés. Ces altérations ont été observées expérimentalement de façon prédominante chez des animaux exposés à des composés nitrosés (Shiao, 2009) par rapport à des animaux non exposés. Ceci montre que d'autres molécules chimiques que le TCE peuvent induire de telles mutations sur le VHL. Il est possible que le TCE ait cette capacité ainsi que d'autres molécules chimiques.

Dans l'étude de Brauch *et al.* (2004), les mutations faux-sens étaient également prédominantes chez les travailleurs allemands exposés au TCE. Cependant, seule une mutation sur le codon 454 a été associée à une exposition spécifique au TCE. Il faut noter qu'une étude similaire réalisée chez des travailleurs exposés au TCE en France (Charbonel *et al.*, 2007) n'a pas permis de reproduire l'observation de Brauch *et al.* (2004). Charbonel *et al.* (2007) ont analysé le spectre de mutations sur le gène VHL de 25 tumeurs rénales provenant de sujets exposés au TCE et de 23 tumeurs rénales provenant de sujets témoins (cancers sporadiques chez des non exposés au TCE). Ils n'ont pas observé de différences entre les deux groupes. Le taux de mutations noté sur ce gène n'était que de 2 mutations sur les 25 tumeurs des sujets exposés (8 %) et de 2 mutations sur les 23 tumeurs des sujets témoins. Ces mutations étaient de type faux-sens, et les chercheurs n'ont observé aucune mutation du codon 454. Les auteurs concluent donc à l'absence de lien entre les cancers du rein et l'exposition au TCE. Ce résultat est inattendu compte tenu du taux de mutations faux-sens normalement relevé par les autres publications dans le cas des cancers sporadiques. Il faut rappeler que, dans l'étude de Brauch *et al.* (2004), une mutation du codon 454 a été observée seulement chez des sujets hautement exposés. Cependant, ce résultat sème le doute chez les épidémiologistes quant à la possibilité d'un lien causal pour le cancer du rein sans toutefois exclure cette possibilité.

⁹ Mutation faux-sens (*missense*). Cette mutation ponctuelle se traduit par le changement d'un nucléotide par un autre. Cette modification de nucléotide entraîne une modification de l'acide aminé codé. Le changement d'un acide aminé peut avoir ou non une répercussion en termes de fonction de la protéine produite par le gène.

¹⁰ Les nucléotides sont des acides désoxyribonucléiques pour l'ADN et ribonucléiques pour l'ARN. Un nucléotide est composé de trois parties : un groupement phosphate (ou acide phosphorique), identique pour les nucléotides de l'ADN et de l'ARN; un sucre à cinq atomes de carbone (désoxyribose pour l'ADN et ribose pour l'ARN) et une base azotée variable en fonction du type de nucléotide (purine ou pyrimidine). Dans l'ADN, il existe quatre nucléotides différents qui se différencient par leur base respective : l'adénine (A), la guanine (G), la thymine (T) et la cytosine (C).

Shiao (2009) souligne qu'en plus de l'observation d'une corrélation entre le TCE et un spectre de mutations propre au gène VHL, il est nécessaire que le potentiel cancérigène de mutations spécifiques soit démontré parce que, selon lui, des mutations du gène VHL peuvent ne pas être cancérigènes pour le rein. Il explique que le gène VHL peut avoir plusieurs fonctions et ajoute que, présentement, il n'est pas possible de déterminer quels types d'altérations du gène VHL peuvent être cancérigènes.

4. Bien sûr, la population de Shannon a été exposée au TCE durant quelques années. Cependant, dans les études épidémiologiques réalisées chez des travailleurs exposés au TCE, où une augmentation de l'incidence de cancers du rein a été observée, l'exposition des travailleurs était, selon toute vraisemblance, bien supérieure à celle des résidents de Shannon en termes de doses quotidiennes moyennes¹¹. À partir des observations en toxicologie sur la relation entre l'augmentation de la dose d'exposition et l'augmentation de l'incidence d'effets toxiques, il est difficile de concevoir que la plupart des cancers développés par les résidents de Shannon puissent être attribuables à leur exposition au TCE, comme le suggèrent Charbonneau et Finkelstein (2009). Il ne faut pas oublier que, dans la population québécoise (toutes causes de décès confondues), les décès par cancers représentent environ 30 % de tous les décès et que l'incidence de cancers augmente avec l'âge.
5. Dans les tissus des tumeurs analysés de résidents de Shannon, le FAL calculé variait de 0,33 à 0,93.

À la connaissance des auteurs du présent avis scientifique, aucune étude publiée jusqu'à ce jour n'utilise le calcul du FAL pour déterminer une relation causale entre un cancer et l'exposition à une substance toxique potentiellement cancérigène. De plus, aucune publication dans la littérature scientifique n'explique le choix des seize marqueurs utilisés ni le lien avec le TCE et ces marqueurs. Comme il est indiqué précédemment, ce FAL est utilisé en clinique comme outil pour juger de la conduite à suivre dans le traitement des patients affectés par certains cancers. Cette approche est établie sur la base de l'observation d'une corrélation entre le taux de mutations sur certains chromosomes (tout dépend du type de cancers) et la gravité de certains cancers (ex. : côlon et foie).

6. Les choses se compliquent au moment d'établir un spectre de mutations, qui serait propre à une exposition particulière. En 2005, Finkelstein *et al.* pensaient avoir déterminé un spectre de mutations propre à une exposition au TCE. Ils proposaient de rechercher ce spectre sur les tissus provenant de tumeurs développées par des résidents de Shannon afin de vérifier l'existence d'un lien causal entre ces tumeurs et

¹¹ Un travailleur respire environ 10 m³ d'air par quart de travail. Ainsi, un travailleur exposé à une concentration de TCE dans l'air correspondant à la norme de 50 ppm inhalerait quotidiennement une dose de 2 690 000 µg de TCE. Par voie pulmonaire, le travailleur absorbe environ 80% de la dose inhalée, soit une dose de 2 150 000 µg/jour. D'un autre côté, une personne vivant à Shannon qui aurait bu quotidiennement 2 litres d'eau contaminée à 1 200 µg de TCE/litre, aurait absorbé 2400 µg de TCE. Ceci correspond à une dose 897 fois moins élevée que celle du travailleur exposé à la norme en TCE en milieu de travail.

l'exposition de ces résidants au TCE. Aujourd'hui, ils concluent qu'un lien causal peut être démontré par un FAL plus élevé que 0,3, en analysant seize marqueurs de mutations observées sur le chromosome 3 entier sans considérer un spectre spécifique, sauf pour une mutation sur une portion de la partie distale de l'exon 1 du gène.

A priori, leur approche peut sembler intéressante et innovatrice. Cependant, sa validation, pour conclure à un lien causal lorsque le FAL est supérieur à 0,3, n'a pas été établie avec une approche méthodologique reconnue en science, particulièrement en épidémiologie. Pour ce faire, l'analyse préconisée par Charbonneau et Finkelstein (2009) devrait être réalisée sur un nombre significatif de tissus de cancers provenant de sujets non exposés au TCE (idéalement, plus de 10 pour chaque type de cancers de même type histologique et au même stade d'avancement). Les résultats obtenus devraient être ensuite comparés avec les résultats des résidants de Shannon. Pour procéder à l'analyse, il serait important de tenir compte des types de cancers développés par les résidants de Shannon, dont les tissus ont été analysés à l'aide de l'approche proposée. De préférence, les tissus analysés devraient provenir de sujets québécois. Les résultats d'une telle analyse devraient ensuite être publiés en vue d'une évaluation par les pairs.

Toutefois, la tâche ne serait pas facile parce que plusieurs facteurs doivent être considérés : l'appariement de l'âge et du sexe des patients et du type histologique des cancers, ainsi que la présence ou l'absence de métastases. Une telle validation est ardue à réaliser. Il y a fort à parier, qu'après une telle étude, il restera encore certaines zones d'incertitudes, qui risquent de compliquer cette mise en évidence.

RÉFÉRENCES

- Académie Nationale de Médecine, l'Académie des sciences – Institut de France, le Centre International de Recherche sur le Cancer (OMS – Lyon), la Fédération Nationale des Centres de Lutte contre le Cancer (2008). *Les causes du cancer en France*. Avec le concours de l'Institut National du Cancer et de l'Institut National de Veille Sanitaire. Académie Nationale de Médecine.
http://www.academie-sciences.fr/publications/rapports/pdf/cancer_13_09_07.pdf.
- Brauch, H., Weirich, G., Brieger, J., Glava, D., Rödl, H., Eichinger, M. *et al.* (2000). VHL alterations in human clear cell renal cell carcinoma: association with advanced tumor stage and a novel hot spot mutation. *Molecular biology and genetics. Cancer Research*, 60(7), 1942-1948.
- Brauch, H., Weirich, G., Hornauer, M. A., Störkel, S., Wöhl, T. et Brüning, T. (1999). Trichloroethylene exposure and specific somatic mutations in patients with renal cell carcinoma. *Journal of the National Cancer Institute*, 91(10), 854-861.
- Brauch, H., Weirich, G., Klein, B., Rabstein, S., Bolt, H. M. et Brüning, T. (2004). VHL mutations in renal cell cancer: does occupational exposure to trichloroethylene make a difference? *Toxicology Letters*, 151(1), 301-310.
- Brüning, T. et Bolt, H. M. (2000). Renal toxicity and carcinogenicity of trichloroethylene: key results, mechanisms, and controversies. *Critical Reviews in Toxicology*, 30(3), 253-285.
- Brüning, T., Lammert, M., Kempkes, M., Thier, R., Golka, K. et Bolt, H. M. (1997). Influence of polymorphisms of GSTM1 and GSTT1 for risk of renal cell cancer in workers with long-term high occupational exposure to trichloroethene. *Archives of Toxicology*, 71(9), 596-599.
- Charbotel, B., Fevotte, J., Hours, M., Martin, J. L. et Bergeret, A. (2006). Case-control study on renal cell cancer and occupational exposure to trichloroethylene. Part II: Epidemiological aspects. *Annals of Occupational Hygiene*, 50(8), 777-787.
- Chevillard, S., Ugolin, N., Vielh, P., Ory, K., Levalois, C., Elliott, D. *et al.* (2004). Gene expression profiling of differentiated thyroid neoplasms: diagnostic and clinical implications. *Clinical Cancer Research*, 10(19), 6586-6597.
- Finkelstein, S. D., Swalsky, P. A et Wilson, M. M. (2005). *Dynamic mutational fingerprint of acquired damage in cancers from subjects to trichloroethylene*. Pittsburg, PA: RedPath Integrated Pathology.
- Harth, V., Brüning, T. et Bolt, H. M. (2005). Renal carcinogenicity of trichloroethylene: update, mode of action and fundamentals for occupational standard setting. *Reviews on Environmental Health* 20(2), 103-118.
- Klug, W., Cummings, M. et Spencer, C. *Génétique*. (2006). Pearson/Education.

National Research Council (2009). *Contaminated water supplies at Camp Lejeune: assessing potential health effects*. Committee on Contaminated Drinking Water at Camp Lejeune. National Academies Press. <http://www.nap.edu/catalog/12618.html>.

Scott, C. S et Chiu, W. A. (2006). Trichloroethylene cancer epidemiology: a consideration of select issues. *Environmental Health Perspectives*, 114(9), 1471-1478.

Schinzler, A. C. et Hahn, W. C. (2008). Oncogenic transformation and experimental models of human cancer. *Frontiers in Bioscience*, 13, 71-84.

Shiao, Y. H. (2009). Genetic signature for human risk assessment: lessons from trichloroethylene. *Environmental and Molecular Mutagenesis*, 50(1), 68-77.

