

Les électrons de très faible énergie produisent des lésions de l'ADN

L'utilisation des rayonnements ionisants en radiothérapie ainsi que la nécessité d'obtention d'une radioprotection efficace expliquent l'intérêt croissant de l'étude des effets de ces agents physiques sur la matière vivante, l'ADN en particulier. En effet, l'interaction des rayons thérapeutiques (X ou Gamma) avec les cellules produit, par effets Compton et photoélectrique essentiellement, des électrons rapides qui à leur tour produisent un nombre important d'électrons secondaires. Il était classiquement admis que les dommages génotoxiques provoqués par les électrons secondaires ne pouvaient survenir qu'à des énergies supérieures à l'énergie d'ionisation, ou encore après la solvatisation des électrons, lorsque ces derniers deviennent des espèces chimiques réactives [1]. Or, un grand nombre d'électrons secondaires ont des énergies plus basses que ces seuils. Jusqu'à présent, aucune mesure directe démontrant l'interaction de ces électrons de très basse énergie avec l'ADN n'avait été réalisée, principalement en raison des difficultés expérimentales imposées par la complexité du milieu biologique et des distances de pénétration très faibles des électrons lents.

La caractérisation des interactions des électrons secondaires avec des molécules bio-organiques simples et complexes en phase condensée [2, 3] nous a permis d'élaborer des techniques permettant de mettre en évidence et de comprendre les interactions fondamentales des électrons de basse énergie avec la molécule d'ADN [4]. Des plasmides d'ADN secs sont irradiés avec des électrons de basse énergie dans des conditions d'hypervide permettant de diminuer de façon considérable la présence d'impuretés susceptibles d'interagir

avec ces électrons. L'irradiation des plasmides se fait par une source d'électrons à haut courant, pendant un temps spécifique et à une densité de courant fixe. L'ADN est ensuite

recupéré dans une solution pour être analysé par séparation sur gel d'électrophorèse. L'analyse quantitative des dommages de l'ADN correspondant aux formes surenroulées,

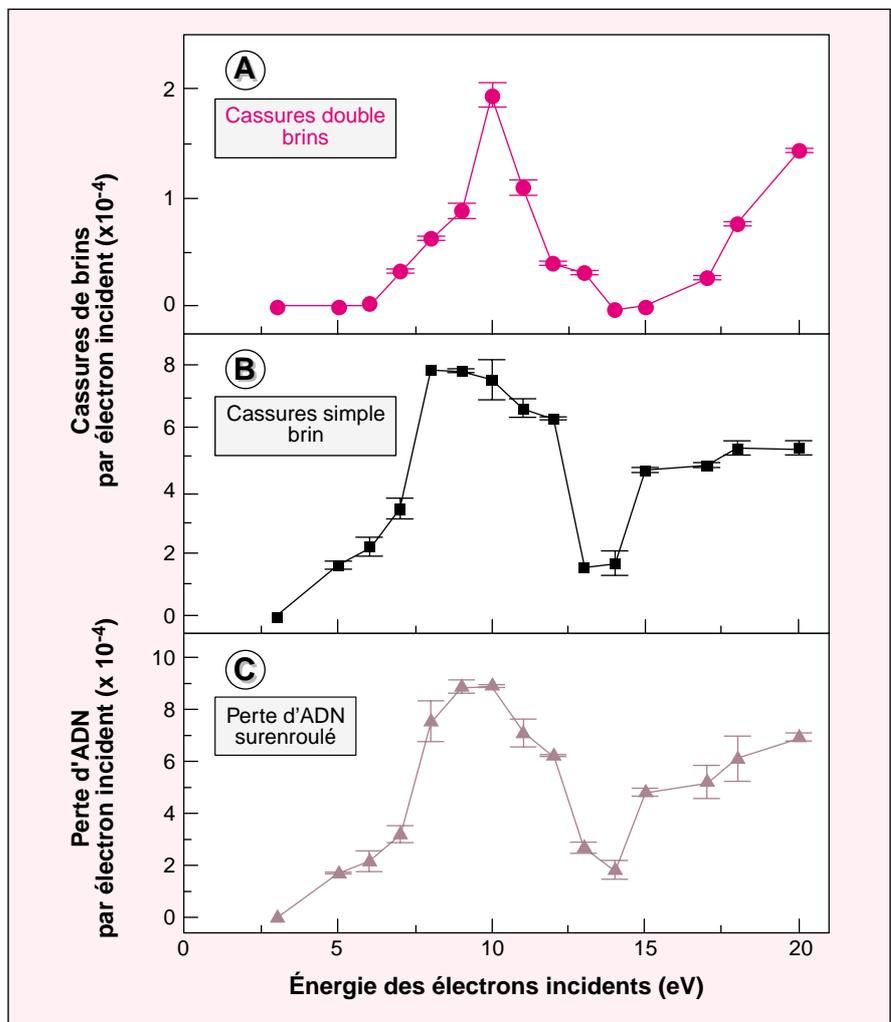


Figure 1. **Effets des électrons de basse énergie sur l'ADN.** Les rendements de cassures double (A) et simple (B) brins et la perte de plasmides surenroulés (C) sont exprimés en fonction de l'énergie des électrons incidents. On observe une très nette dépendance des lésions de l'ADN à l'énergie cinétique initiale de l'électron.

relaxée, linéaire et fragmentée, est réalisée à l'aide du programme ImageQuant (*molecular dynamics*). Les rendements de perte de plasmide surenroulé, et d'induction de cassures simple brin et double brins en fonction de l'énergie des électrons incidents sont présentés dans la *figure 1*. Nos résultats montrent que l'interaction des électrons de basse énergie avec l'ADN peut provoquer des dommages biologiques significatifs, sous forme de cassures simple et double brins, à des énergies bien plus basses que celles pour lesquelles survient une ionisation de l'ADN qui est de 8 à 10 eV [5]. On note aussi que le dommage à l'ADN induit par ces électrons est très sensible à l'énergie cinétique initiale de l'électron, particulièrement au dessus de 14-15 eV, avec un pic important à 10 eV. Ce comportement est très différent de celui provoqué par les photons à des énergies similaires. En effet, le nombre de cassures simple et double brins augmente de façon continue à partir d'un seuil de 7 eV et demeure constant au dessus de 12 eV [6], jusqu'à 2 keV [7]. Les valeurs absolues des rendements de cassures par des électrons de 10 eV sont de un à deux ordres de grandeurs plus importantes que celles des cassures provoquées par des photons de 10 à 25 eV d'énergie [8]. En outre, le rapport des cassures simple et double brins est de 30 pour 1 pour les photons de 7 à 25 eV, alors qu'il n'est que de 4 pour 1 dans le cas des électrons de 7 à 20 eV. Il apparaît donc que les mécanismes responsables des dommages à l'ADN ne dépendent pas uniquement de l'énergie absorbée mais aussi de la particule qui dépose cette énergie. Ces résultats montrent aussi clairement que l'ionisation, en particulier la formation de radicaux OH à partir des molécules d'eau, ne peut être responsable des lésions provoquées par les électrons de faible énergie puisque ces lésions surviennent pour des énergies inférieures à celles permettant l'ionisation.

Nous avons donc, dans un deuxième temps, recherché quels mécanismes étaient responsables de ces lésions. Au-dessous de 14 eV, la dépendance énergétique des lésions de l'ADN a

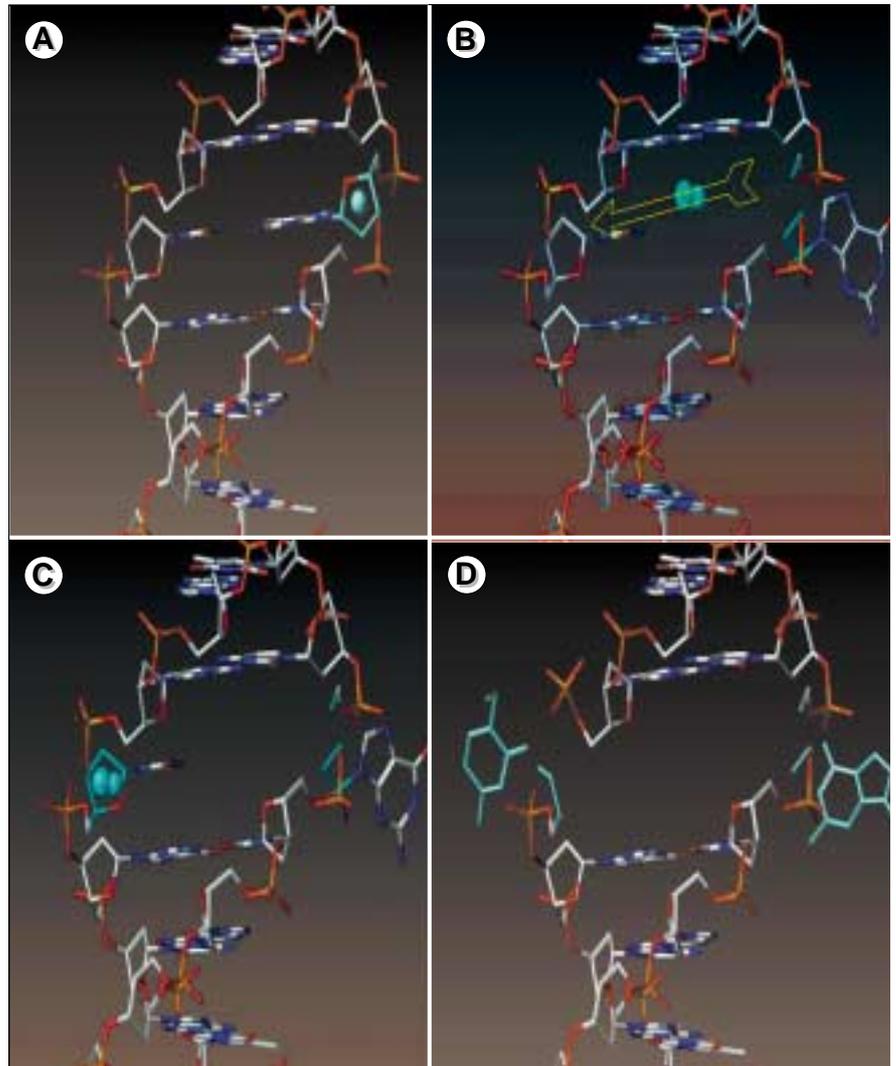


Figure 2. Attachement dissociatif d'un électron et lésion de l'ADN L'attachement d'un électron sur une molécule de sucre de l'ADN entraîne la formation d'un anion transitoire (A). La dissociation de cet anion transitoire induit une cassure simple brin (B) suivie d'une réaction subséquente du fragment formé sur un autre site de l'ADN se trouvant sur le brin opposé (C), ce qui provoque une cassure double brin (D).

pu être attribuée à la formation d'anions transitoires de durée de vie extrêmement courte (quelques femtosecondes) provenant de l'attachement temporaire d'un électron à une unité moléculaire de l'ADN (c'est à dire une base, un sucre ou une molécule d'eau). Cette capture d'électron provoque la dissociation de l'anion, phénomène appelé attachement dissociatif, et produit ainsi une rupture localisée des liens moléculaires.

L'attachement dissociatif [8] a été démontré en mesurant le rendement

d'apparition d'ions négatifs, comme les ions H^- , provoqués par l'impact d'électrons de basse énergie sur des couches minces solides de thymine, d'eau [9], d'un analogue du sucre [2] ou d'hydrocarbures linéaires [10] et cycliques [3, 11]. Les électrons d'énergie inférieure à 15 eV provoquent en effet des fragmentations de ces molécules par l'attachement de l'électron incident, ce qui entraîne la formation d'un anion moléculaire transitoire de courte vie. Pour une molécule RH, ceci corres-

pond à : $e^- + RH \rightarrow RH^{*-}$, où les fragments R et H^- se trouvent sur une surface de potentiel répulsif. Cet état peut décroître par le détachement de l'électron [8, 12] ou par la dissociation de l'anion [3, 8-11] selon la formule suivante : $RH^{*-} \rightarrow R^\bullet + H^-$. Il apparaît en outre que les réactions subséquentes des produits de fragmentation jouent un rôle majeur dans la production des lésions de l'ADN. En effet, même si l'attachement dissociatif peut provoquer une cassure simple brin, on observe ici (figure 1) des cassures double brins à des énergies bien plus basses que celles requises pour former par exemple une double ionisation (> 20 eV) à l'intérieur de 10 paires de bases de part et d'autre du groupement phosphate-sucré sur les deux brins [6]. Ceci suggère que quelques produits de fragmentation réagissent avec d'autres composants de l'ADN dans un petit volume et entraînent des lésions multiples en différents sites sur les brins opposés (figure 2).

En conclusion, ces résultats démontrent que les mécanismes par lesquels les électrons secondaires de basse énergie provoquent des lésions de l'ADN diffèrent considérablement de ceux des lésions provoquées par des photons ultra-violets et que les lésions ne dépendent pas seulement de la quantité d'énergie déposée, mais aussi de la nature physique de l'entité qui dépose l'énergie. Les électrons de basse énergie produits en grand nombre, et tout particulièrement la

réaction de leurs produits, jouent un rôle crucial dans la radiolyse de l'ADN à des temps précoces, en ce sens qu'ils induisent des dommages significatifs bien avant leur thermalisation et le début de la diffusion des espèces réactives secondaires produites le long de la radiation ionisante primaire. Puisque ce type d'interaction fondamentale électron-molécule, observée ici, semble se produire dans de petites molécules indépendamment de leur état d'agrégation, il est fort probable que de tels phénomènes existent aussi dans la cellule vivante. Cette découverte constitue donc un phénomène important dont il faudra à l'avenir tenir compte pour tout ce qui concerne les effets génotoxiques des radiations.

Remerciements

Les auteurs de cet article tiennent à remercier Tsvetan Gantchev pour la modélisation de la structure moléculaire de la figure 2.

1. Sanche L. Primary interactions of low energy electrons in condensed matter. *Excess Electrons in Dielectric Media*, edited by C. Ferradini and J. P. Jay-Gerin (Boca Raton : CRC Press, Inc.) ; 1991 : 1-42.
2. Antic D, Parenteau L, Lepage M, Sanche L. Low energy electron damage to condensed phase deoxyribose derivatives investigated by electron stimulated desorption of H and electron energy loss spectroscopy. *J Phys Chem* 1999 ; 103 : 6611-9.
3. Dugal PC, Huels MA, Sanche L. Low-energy (5-25 eV) electron damage to homo-oligonucleotides. *Radiat Res* 1999 ; 151 : 325-33.
4. Boudaïffa B, Cloutier P, Hunting D, Huels MA, Sanche L. Resonant formation of DNA strand breaks by low-energy (3 to 20 eV) electrons. *Science* 2000 ; 287 : 1658-60.

5. Colson AO, Besler B, Sevilla MD, Ab-initio orbital calculations on DNA base pair radical ions: effect of base pairing on proton-transfer energies. *J Phys Chem* 1992 ; 96 : 9787.
6. Hieda K. DNA damage induced by vacuum and soft X-ray photons from synchrotron radiation. *Int J Radiat Biol* 1994 ; 66 : 561-7.
7. Michael BD, Prise KM, Folkard M, et al. Critical energies for ssb and dsb induction in plasmid DNA: Studies using synchrotron radiation. In: *Radiation Damage in DNA: Structure/Function Relationships at Early Times*. (Battelle, Columbus, OH) 1995 : 251-8.
8. Sanche L. Interactions of low-energy electrons with atomic and molecular solids. *Scann Microsc* 1995 ; 9 : 619-56.
9. Rowntree P, Parenteau L, Sanche L. Electron stimulated desorption via dissociative attachment in amorphous H_2O . *J Chem Phys* 1991 ; 94 : 8570-6.
10. Rowntree P, Parenteau L, Sanche L. Anion yields produced by low-energy electron impact on condensed hydrocarbon films. *J Chem Phys* 1991 ; 95 : 4902-9.
11. Stepanovic M, Pariat Y, Allan M. Dissociative electron attachment in cyclopentanone, γ -butyrolactone, ethylene carbonate, and ethylene carbonate-d4: role of dipole-bound resonances. *J Chem Phys* 1999 ; 110 : 11376-82.
12. Afraatoni K, Gallup GA, Burrow PD, Electron attachment energies of the DNA bases. *J Chem Phys* 1998 ; 102 : 6205-7.

Badia Boudaïffa
Pierre Cloutier
Darel Hunting
Michael A. Huels
Léon Sanche

*Groupe CRM en Sciences des radiations,
Faculté de médecine, Université de Sherbrooke,
Sherbrooke, Québec, Canada J1H 5N4.*