

6 DONNÉES ACTUELLES SUR LES MÉCANISMES DE CANCÉROGÉNÉCITÉ DE L'AMIANTE ..	83
1. Rappel sur les mécanismes généraux de la cancérogénèse	83
2. Méthodes d'étude de la cancérogénicité des fibres d'amiante ..	85
3. Cancérogénicité de l'amiante étudiée chez l'animal	86
3.1. Moyens d'étude	86
3.2. Résultats obtenus chez le rat avec l'amiante seul	87
3.3. Résultats obtenus chez le hamster avec l'amiante seul ...	88
3.4. Effet promoteur et co-cancérogène de l'amiante	89
3.5. Caractéristiques des fibres qui conditionnent la réponse expérimentale	90
3.5.1. Dimensions	90
3.5.2. Biopersistance	91
3.5.3. Production d'espèces moléculaires réactives	93
4. Effets cellulaires des fibres d'amiante	94
4.1. Effets en relation avec un potentiel génotoxique et cancérogène	95
4.1.1. Mutagénicité et endommagement de l'ADN	95
4.1.2. Anomalies chromosomiques	95
4.1.3. Effet promoteur	96
4.1.4. Transformation	97
4.2. Caractéristiques des fibres qui conditionnent la réactivité ..	97
4.2.1. Dimensions et production d'espèces actives dérivées de l'oxygène	97
4.2.2. Type d'échantillon	98
4.3. Effets observés sur cellules mésothéliales	98
5. Réactivité des fibres d'amiante in vitro. Systèmes expérimentaux acellulaires	99
6. Les études expérimentales reflètent-elles les observations faites chez l'homme ?	100
6.1. Comparaison entre les caractéristiques des tumeurs induites par l'amiante et les mécanismes d'action des fibres ...	100
6.2. Caractéristiques des fibres qui conditionnent la réponse expérimentale	102
6.3. Réactivité différentielle entre chrysotile et amphiboles ..	102

7. Apport des études expérimentales et mécanistiques en relation avec les problèmes actuels de l'exposition à l'amiante	103
7.1. Relations dose-effet	103
7.2. Effet d'expositions transitoires	104
8. Conclusions	104
Références bibliographiques	106

6

Données actuelles sur les mécanismes de cancérogénicité de l'amiante

1. Rappel sur les mécanismes généraux de la cancérogenèse

On rappellera brièvement que la cancérisation (ou transformation néoplasique) d'une cellule résulte d'un certain nombre d'altérations de son génome. Celles-ci conduisent à des anomalies dans le fonctionnement de gènes critiques (oncogènes et gènes suppresseurs de tumeur) dont la plupart jouent un rôle dans le contrôle de la prolifération cellulaire. Les protéines codées par ces gènes peuvent aussi réguler l'expression d'autres gènes modulant la réponse à des facteurs régulateurs négatifs ou positifs de la prolifération. La transformation néoplasique est un processus multi-étapes qui touche la cellule. Cependant, la croissance tumorale résulte non seulement de la multiplication autocrine (entretenu par des facteurs produits par la cellule) ou paracrine (facteurs produits par des cellules voisines) de cellules transformées, mais également de l'absence de reconnaissance de ces cellules anormales par la surveillance immunitaire, soit en raison de son inactivation, soit parce que la cellule maligne échappe aux systèmes de reconnaissance.

Les altérations génétiques des cellules néoplasiques ont pour origine des lésions de l'ADN. Celles-ci peuvent être provoquées par différentes molécules qui sont capables de changer la structure et la composition de l'ADN (cassures, pontages, adduits, hydroxylation de bases, etc...). Étant donné que la stabilité de l'ADN est capitale pour le maintien de la « normalité » cellulaire, il existe des systèmes qui contrôlent l'intégrité de l'ADN. Lorsque des anomalies de l'ADN sont détectées, des mécanismes de réparation sont mis en œuvre dans la cellule. Toutefois, la réparation peut être plus ou moins fidèle et des lésions peuvent subsister ou sont susceptibles d'être générées par la réparation elle-même. Au sein d'un tissu, une cellule vit ; elle se divise (mitose) et meurt. Le cycle cellulaire comporte plusieurs phases : interphase et période de division. L'interphase comporte des intervalles successifs dont la phase de duplication de l'ADN. La transformation néoplasique des cellules nécessite plusieurs étapes qui se produisent, soit en raison de l'exposition des cellules à d'autres molécules actives, soit du fait du vieillissement cellulaire. La prolifération de cellules dont le génome est altéré de manière irréversible, pour certains gènes spécifiques, provoque une instabilité génétique qui peut conduire, à plus long terme à l'expression d'un phénotype malin.

Finalement, les paramètres cellulaires importants qui conditionnent la transformation néoplasique sont : les lésions de l'ADN, la réparation, l'instabilité génétique et la dérégulation des mécanismes de contrôle de la prolifération (Barrett *et al.*, 1990 ; Aaronson, 1991 ; Solomon *et al.*, 1991 ; Sarasin, 1994 ; Bohr, 1995) C'est en tenant compte de ce contexte que l'on a étudié les effets des fibres d'amiante au niveau cellulaire et que de nombreux efforts ont été développés pour comprendre les mécanismes d'action des fibres.

Si, actuellement, la cancérogenèse se conçoit comme résultant d'une suite d'altérations affectant des gènes critiques, comme cela a été résumé ci-dessus, des travaux expérimentaux plus anciens avaient déjà permis d'établir des modèles de cancérogenèse chimique. Il a été démontré que des tumeurs pouvaient être obtenues avec des agents chimiques, non seulement par exposition à une dose unique donnée, ou par expositions répétées à de plus faibles doses, mais également par l'application d'une seule dose non cancérogène, si elle était suivie de doses répétées d'un promoteur. Cette dernière molécule n'est pas, en soi, cancérogène mais elle permet l'expression d'un phénotype transformé, à condition qu'un agent initiateur ait été préalablement appliqué. Un mécanisme d'action épigénétique fait référence à une action promotrice. Dans le modèle initialement développé en 1947, sur peau de souris, par Berenblum (Shubik, 1984) et qui a abouti au concept de cancérogenèse en 2 étapes « initiation-promotion », l'initiation est considérée comme un événement mutational qui provoque une altération irréversible du génome cellulaire, transmise aux cellules filles. La promotion n'est pas associée à des mutations, elle comporte plusieurs étapes et nécessite un certain délai. Dans le modèle de Berenblum, l'initiateur était un hydrocarbure polycyclique et le promoteur un ester de phorbol. La majorité des tumeurs étaient des tumeurs bénignes (papillomes) dont 50 % régressaient et une faible proportion des tumeurs restantes (15 %) évoluait en carcinome (Shubik, 1984). La séquence d'application des agents est importante, car le promoteur n'a aucun effet sur l'expression tumorale s'il est appliqué avant l'initiateur, alors qu'il est efficace s'il est appliqué après l'initiateur. A la suite de ces travaux, on a cherché à savoir quelles étaient les modifications cellulaires associées à l'application d'un promoteur. Le tétradécanoyl-phorbol-13-acétate (TPA) a été largement utilisé à cet effet ; il a montré des effets pléiotropes sur les cellules en culture (Bohrman, 1983 ; Blumberg, 1980). Une stimulation de la synthèse de certaines enzymes telles que l'ornithine décarboxylase (ODC) et l'activateur du plasminogène a été observée. Une stimulation de la prolifération a été obtenue sur la plupart mais non sur tous les types cellulaires, ainsi qu'une inhibition de la coopération cellulaire (communication entre les cellules). Le TPA provoque aussi l'apparition d'ion superoxyde O_2^- dans le milieu de culture de cellules traitées par cet agent. L'activation cellulaire passe par la liaison à un récepteur [protéine kinase C] (Nishizuka, 1984) qui permet la transduction du signal et l'activation de certaines gènes tels que celui codant pour l'ODC.

Le promoteur se distingue ainsi du co-cancérogène. On définira un co-cancérogène comme une substance qui, co-administrée avec un cancérogène, produit un taux de tumeurs significativement plus élevé que le cancérogène seul. Parfois la limite entre promoteur et co-cancérogène est un peu théorique car une augmentation de dose ou la répétition d'une dose donnée, peut faire passer un promoteur dans le groupe des co-cancérogènes. Aujourd'hui, à la lumière des connaissances apportées par la biologie moléculaire et la génétique, il devient très probable que des événements mutationnels peuvent se produire pendant les étapes d'initiation et de promotion. Outre les mutations géniques, les recombinaisons mitotiques peuvent provoquer des altérations cellulaires faisant progresser les cellules le long des étapes de la transformation néoplasique. Un cancer peut résulter de l'expansion multiétapes d'un clone cellulaire (population issue d'une cellule) dont le génome a été altéré. Au cours de cette expansion, les différentes cellules de la population acquièrent des modifications génotypiques et phénotypiques qui aboutissent finalement à la croissance tumorale. Les cancérogènes interviennent sur l'une ou/et l'autre des différentes phases de la transformation, en induisant une altération cellulaire irréversible et/ou en favorisant l'expansion d'un clone cellulaire altéré. Actuellement, on ne connaît pas le nombre d'événements nécessaires à l'émergence d'une population cellulaire transformée, ni si l'altération d'un ou plusieurs clones est nécessaire à l'émergence d'une tumeur cliniquement détectable.

2. Méthodes d'étude de la cancérogénicité des fibres d'amiante

Les méthodes utilisées pour évaluer et étudier la cancérogénicité de molécules chimiques ont été appliquées aux fibres d'amiante. Toutefois, étant donné les spécificités de cette cancérogénèse due à des particules solides, des investigations plus adaptées ont été réalisées, en particulier pour étudier les effets au niveau de la plèvre. De plus, une attention particulière a été portée à la recherche de paramètres des fibres responsables de la toxicité (forme, réactivité de surface). Il faut signaler que cette recherche est difficile étant donné que les fibres d'amiante représentent une entité complexe (large spectre granulométrique, surface susceptible d'être modifiée par le milieu biologique et pouvant interagir avec ses constituants, instabilité chimique et physique en milieu biologique).

Les expérimentations animales ont porté sur l'observation du potentiel cancérogène des fibres après exposition par inhalation, inoculation intrapleurale ou intra-péritonéale pour étudier plus spécifiquement le mésothéliome, ou par instillation intratrachéale. Afin de réduire les études chez l'animal et de comprendre les mécanismes d'action au niveau cellulaire et moléculaire, de nombreux modèles alternatifs *in vitro* ont été développés. Ces systèmes sont

soit aspécifiques, utilisant des types cellulaires préalablement exploités pour étudier la cancérogénèse chimique ou physique (radiations) ; soit plus directement impliqués dans la cancérogénèse respiratoire (cellules trachéales, épithéliales pulmonaires et cellules mésothéliales pleurales).

Les différentes expérimentations ont été réalisées avec des échantillons d'origine diverse. Le plus souvent, il s'agissait de références préparées en 1966 par l'Union Internationale contre le Cancer [UICC] (Timbrell, 1970) Deux échantillons de chrysotile ont été préparés : l'un provenant de Rhodésie ; l'autre étant un mélange de fibres de mines du Canada constitué à partir de 8 lots provenant des principaux points d'extraction, au prorata de leur production. Les autres préparations de l'UICC étaient des fibres de crocidolite et d'amosite d'Afrique du Sud, ainsi que d'anthrophyllite de Finlande (Germain, 1974) D'autres références ont été fournies par le National Institute of Health and Environmental Sciences (NIEHS, USA). Ces exemples ne sont toutefois pas les seules préparations à avoir été utilisées lors d'expérimentations animales ou cellulaires. Il est important de mentionner la diversité d'origine des échantillons utilisés par les expérimentateurs, car les études épidémiologiques sont par ailleurs effectuées sur des cohortes qui ont des origines (pays, région) et des expositions (type de travail) diverses.

3. Cancérogénicité de l'amiante étudiée chez l'animal

3.1. Moyens d'étude

Les études expérimentales ont été réalisées principalement chez le rat et, à une bien moindre échelle, chez le hamster et la souris. Les animaux ont été exposés aux fibres par différentes méthodologies : inhalation, instillation intratrachéale ou inoculation dans la cavité pleurale ou péritonéale. Deux méthodes sont employées pour l'exposition par inhalation : en chambre d'empoussiérage (Wagner *et al.*, 1974 ; Lee *et al.*, 1981 ; Le Bouffant *et al.*, 1984-1987 ; Davis & Jones, 1988 ; Davis *et al.*, 1986) ou «seulement par voie nasale» (Muhle *et al.*, 1987 ; Smith *et al.*, 1987 ; McConnell *et al.*, 1994 ; Mast *et al.*, 1995 ; Hesterberg *et al.*, 1993) La seconde méthode permet de connaître avec une meilleure précision la quantité de fibres inhalée par les animaux. Si l'exposition par inhalation a l'avantage d'être similaire à la situation que l'on rencontre chez l'homme, il faut constater que la fréquence des tumeurs observées reste faible, surtout pour le mésothéliome pleural. Pour observer, le cas échéant, une augmentation statistiquement significative de la survenue de tumeurs chez des animaux traités, par rapport à des groupes contrôles, il est nécessaire d'exposer un assez grand nombre d'animaux (par exemple, dans une population animale présentant un pourcentage de cancers spontanés de 2 %, il faudrait des groupes de 100 animaux si l'augmentation du nombre de cancers est multiplié par 3,5). En effet, même si les concentrations

utilisées sont très supérieures à celles qui ont pu être trouvées dans des expositions chez l'homme, la quantité de fibres effectivement retenue dans le poumon est très inférieure à celle qui est présente dans l'aérosol en raison des phénomènes d'épuration (Morgan *et al.*, 1975). Cette fraction varie selon la méthode d'inhalation et la concentration ; elle évolue avec le temps. Bien qu'il soit difficile de chiffrer globalement cette fraction, on peut approximativement considérer qu'elle ne dépasse pas quelques pour cent dans un délai de 1 mois après une exposition (Roggli & Brody, 1984 ; Roggli *et al.*, 1987). D'autres méthodes ont été appliquées afin d'exposer les cellules, *in vivo*, à des quantités plus importantes de fibres. Ainsi, des expérimentations ont été réalisées par instillation intratrachéale ou inoculation intrapleurale de fibres, afin de déterminer respectivement la réponse des cellules bronchiques et mésothéliales.

3.2. Résultats obtenus chez le rat avec l'amiante seul

Les résultats de toutes ces études ont montré que les différents types d'amiante produisaient des tumeurs chez le rat, quelque soit la méthode d'exposition employée [Tableau 1]. Par inhalation, la fréquence de tumeurs pulmonaires

Tableau 1 : Taux de production de tumeurs chez le rat exposé à des fibres d'amiante par inhalation ou par inoculation

Type de fibres ¹	Type d'exposition	Type de rats [‡]	Dose [°]	Nb tumeurs/ Nb d'animaux traités* [dont Nb mésothéliome]	Référ.
Chrysotile UICC CD	Inhalation	W	10 mg/m ³	11/21 [1]	Wagner <i>et al.</i> , 1974
Chrysotile UICC RH	Inhalation	W	10 mg/m ³	11/17 [0]	idem
Chrysotile	Inhalation	W ^{°†}	10 mg/m ³	23/40 [3]	Davis & Jones, 1988
Chrysotile	Intrapéritonéal	W ^{°†}	25 mg	23/24 [23]	idem
Chrysotile UICC CD	Intrapleurale	W	20 mg	10/32 [10]	Wagner <i>et al.</i> , 1973
Chrysotile UICC RH	Intrapleurale	W	20 mg	7/31 [7]	idem
Chrysotile UICC RH	Intrapleurale	SD	20 mg	15/32 [14]	Monchaux <i>et al.</i> , 1981
Amosite UICC	Inhalation	W	10 mg/m ³	13/21 [0]	Wagner <i>et al.</i> , 1974
Amosite	Inhalation	W ^{°†}	12 mg/m ³	14/40 [3]	Davis <i>et al.</i> , 1986
Amosite	Intrapéritonéal	W ^{°†}	25 mg	20/21 [20]	idem
Amosite UICC	Intrapleurale	SD	20 mg	20/35 [20]	Jaurand <i>et al.</i> , 1987
Crocidolite UICC	Inhalation	W	10 mg/m ³	13/18 [0]	Wagner <i>et al.</i> , 1974
Crocidolite UICC	Intrapleurale	W	20 mg	19/32 [19]	Wagner <i>et al.</i> , 1973
Crocidolite UICC	Intrapleurale	SD	20 mg	21/32 [21]	Monchaux <i>et al.</i> , 1981

Abréviations : CD : Canada ; Nb : nombre ; RH Rhodésie

Par inhalation, la durée d'exposition est de 24 mois (Wagner *et al.*, 1974) ou de 12 mois (Davis *et al.*, 1986). Par inoculation, il s'agit d'une dose unique

[‡] Toutes les souches utilisées sont « pathogen free »

SD : Sprague Dawley ; W : Wistar

^{°†} Rats Wistar, souche HA/Han

* Le taux de tumeurs (adénomes, carcinomes) dans les contrôles varie schématiquement de 0 à 4%. Aucun mésothéliome n'a été observé, chez les animaux contrôles.

observées avec des fibres d'amiante est plus élevée que celle des mésothéliomes qui ne représentent généralement que quelques tumeurs [Tableaux 1 et 2]. Toutefois, des différences importantes de potentiel cancérigène existent entre différents échantillons, toutes les autres conditions expérimentales étant équivalentes, et les raisons de ces différences ont été recherchées.

Tableau 2 : Taux de formation de tumeurs pulmonaires [tp] et de mésothéliomes [m] chez des rats exposés, par inhalation, à des fibres d'amiante

Type de fibres	Type de rat ¹	Fibres ² mg/m ³	Nombre total ³	Tumeurs pulmonaires ⁴		M ⁵	Références
				nombre	%		
Chrysotile UICC CD	W	10	21	10	(47,6)	1	Wagner <i>et al.</i> , 1974
Chrysotile UICC RH	W	10	17	11	(64,7)	0	idem
Chrysotile	W	15	45	9	(19)	0	Le Bouffant <i>et al.</i> , 1984-1987
Chrysotile	W	6	50	0	(0)	0	Muhle <i>et al.</i> , 1987
Chrysotile long	W	10	40	21	(52,5)	2	Davis <i>et al.</i> , 1988
Chrysotile court	W	10	40	7	(17,5)	1	idem
NIEHS chrysotile	F	10	69	13	(18,8)	1	Hesterberg <i>et al.</i> , 1993 ; Mc Connell, 1994
Amosite UICC	W	10	21	13	(61,9)	0	Wagner <i>et al.</i> , 1974
Amosite long	W	10	40	11	(27,5)	3	Davis <i>et al.</i> , 1986
Amosite court	W	10	42	0	(0)	1	idem
Amosite	SD	300	16	3	19	0	Lee <i>et al.</i> , 1981
Crocidolite UICC	W	10	18	13	(72,2)	0	Wagner <i>et al.</i> , 1974
Crocidolite	W	2,2	50	1	(2)	0	Muhle <i>et al.</i> , 1987
Crocidolite	OM	7	60	2	(3)	1	Smith <i>et al.</i> , 1987
Crocidolite	F	-	106	15	(14,1)	2	McConnell <i>et al.</i> , 1994

¹ Toutes les souches utilisées sont « pathogen free »

F : Fisher 344 ; OM : Osborne Mendel ; SD : Sprague Dawley ; W : Wistar

² La durée d'exposition est de 24 mois ou de 12 mois selon les auteurs

³ Nombre d'animaux exposés

⁴ Chez les animaux contrôles non traités, le pourcentage de TP (adénomes, carcinomes) n'excède pas 4 % dans ces études.

⁵ Nombre de mésothéliomes. Aucun mésothéliome n'a été observé chez les animaux contrôles.

3.3. Résultats obtenus chez le hamster avec l'amiante seul

Dans les études par inhalation mentionnées ci-dessus, Lee *et al.* (1981), Smith *et al.* (1987) et Hesterberg *et al.* (1991) ont exposé respectivement 7 hamsters (amosite, 300 mg/m³), 70 hamsters (crocidolite, 7 mg/m³) et 43 hamsters (chrysotile, 10mg/m³, exposition seulement 18 mois). Dans ces trois études, aucune tumeur n'a été observée. En exposition par instillation intratrachéale avec 26 mg de fibres de crocidolite, aucune tumeur n'a été observée chez 60 hamsters (Feron *et al.*, 1985). En revanche, 10 cancers pulmonaires (1 sarcome et 9 carcinomes) et 8 mésothéliomes ont été observés dans un groupe de 142 hamsters exposés par 8 instillations de 1 mg de fibres de crocidolite

Tableau 3 : Taux de tumeurs pulmonaires (tp) et de mésothéliomes (m) produits chez le rat par des échantillons de fibres longues ou courtes (d'après Davis et al., 1986 ; 1988).

Nombre	AMOSITE ¹		CHRYSOTILE ¹	
	long	court	long	court
Inhalation ²				
Rats exposés	40	42	40	40
TP	11	0	20	7
M	3	1	3	1
Inoculation IPe ³				
Rats exposés	-	-	24	24
M ⁴	20 (95 %)	1 (4 %)	23	22
M ⁵	21 (88 %)	0 (0 %)	22	8

¹ Pourcentage de fibres plus longues que :

10 µm : 11 % (amosite long) ; 0.1 % (amosite court).

20 % (chrysotile long et chrysotile court)

30 µm : 5 % (chrysotile long) ; 0.3 % (chrysotile court)

² Concentration : 10 mg/m³. Contrôles : 2 tumeurs pulmonaires, pas de mésothéliome

³ IPe : intrapéritonéal : aucun mésothéliome chez les contrôles

⁴ Amosite : 25 mg ; chrysotile : 25 mg

⁵ Amosite : 10 mg ; chrysotile 2,5 mg

(Möhr *et al.*, 1984). Dans cette étude, on ignore la fréquence de tumeurs spontanées, mais sur 35 animaux exposés à la même dose d'oxyde de titane, seulement 2 sarcomes ont été détectés sur 135 hamsters. Smith *et al.* (1987) ont rapporté une fréquence de tumeurs pulmonaires de 74 % après 5 instillations intratrachéales de 2 mg de crocidolite, sans aucun mésothéliome, alors qu'aucune tumeur n'a été observée chez 136 hamsters contrôles.

Trop peu de travaux ont été effectués chez le hamster pour que l'on puisse avoir une idée précise de la différence de réponse inter-espèces aux fibres d'amiante. On peut toutefois constater que des tumeurs pulmonaires et des mésothéliomes ont été observés après instillations intratrachéales répétées de fibres d'amiante. Dans une étude rapportée par l'IARC (IARC Monographs, 1977), toutes les formes d'amiante (chrysotile, amosite, crocidolite, anthophyllite), provoquaient des tumeurs après inoculation intrapleurale de 10 mg de fibres. Dans les 3 études répertoriées ci-dessus, aucune tumeur n'a été observée après inhalation (Lee *et al.*, 1981 ; Smith *et al.*, 1987 ; Hesterberg *et al.*, 1991). Chez les rats exposés aux mêmes échantillons de fibres, les auteurs ont obtenu un pourcentage d'animaux porteurs de tumeurs respectivement de 18 % (3/16), 5 % (3/57) et 8 % (14/69, exposition 24 mois) [Tableau 4].

3.4. Effet promoteur et co-cancérogène de l'amiante

Si l'amiante est considéré dans certaines études comme un agent ayant un mécanisme d'action épigénétique, c'est en partie sur la base d'un travail expérimental publié en 1980 par Topping et Netteisheim (1980). Les auteurs

Tableau 4 : Tumorigénicité de fibres d'amiante chez le hamster

Exposition /type de fibres	Dose	Tumeurs produites ¹		Ref
		Hamster	Rat	
Inhalation	mg/m ³			
Amosite	300	0/7	3/16	Lee <i>et al.</i> , 1981
Crocidolite	7	0/58	3/57	Smith <i>et al.</i> , 1987
Chrysotile ²	10	0/43	14/69	Hesterberg <i>et al.</i> , 1991
Instillation	mg			
Crocidolite	26	0/60	NT	Feron <i>et al.</i> , 1985
Crocidolite	8 fois 1	18/142	NT	Mohr <i>et al.</i> , 1984
Crocidolite ³	5 fois 2	20/27	2/25	Smith <i>et al.</i> , 1987

NT = non testé

¹ Nombre d'animaux avec tumeur / nombre d'animaux à risque

² Hamsters exposés 18 mois ; rats 24 mois

³ Pas de tumeur chez les animaux contrôles (hamsters : 0/136 ; rats : 0/150)

montraient que l'application d'une faible dose (25 µg) d'un cancérigène chimique (diméthyl benzanthracène, DMBA) suivie d'un dépôt de 200 µg de fibres de chrysotile dans des explants de trachée transplantée, permettait l'obtention de carcinomes, non observés lorsque chacun des agents était appliqué seul. Dans cette étude, des explants de trachée de rats syngéniques ont été greffés, par implantation sous cutanée. Des pastilles de cire contenant le DMBA et des pastilles de gélatine chargée en fibres étaient insérées chirurgicalement, dans cet ordre, à un intervalle de 4 semaines. Les sarcomes observés dans toutes les séries n'étaient pas comptabilisés. Ce modèle ne correspond pas tout à fait au modèle « initiation-promotion » décrit dans la littérature (importance de la séquence non précisée, réversibilité de l'effet promoteur non étudiée). Les résultats peuvent aussi indiquer un effet co-cancérigène des fibres car une plus forte dose de fibres de chrysotile (12 mg) provoquait à elle seule des carcinomes (Voytek *et al.*, 1990).

Quelques études ont porté sur la recherche d'un effet co-cancérigène, plus particulièrement en utilisant des hydrocarbures polycycliques pour tenter d'évaluer le potentiel co-cancérigène d'agents entrant dans la composition de la fumée de cigarettes. Plusieurs études ont montré un effet co-cancérigène des fibres, en association avec une exposition à des substances chimiques (Mossman & Craighead, 1981 ; Warren *et al.*, 1981) ; dans une étude, le cofacteur était des radiations (Warren *et al.*, 1981).

3.5. Caractéristiques des fibres qui conditionnent la réponse expérimentale

3.5.1. Dimensions

Les études réalisées ont permis de mettre en évidence le rôle important des caractéristiques dimensionnelles des fibres, les fibres les plus longues et les plus

fines produisant schématiquement le plus grand nombre de tumeurs. Par inhalation, à partir d'un même type de fibres, les fibres longues sont cancérogènes alors que les fibres courtes ne le sont pas ou peu, comme cela a été mis en évidence à l'aide de fibres d'amosite ou de chrysotile [Tableau 3]. Des résultats allant dans le même sens ont été trouvés en inoculant des fibres dans la cavité péritonéale, avec cependant un certain nombre de tumeurs obtenues avec des fibres »courtes« de chrysotile [Tableau 3]. Il faut noter que dans ces études, les différences de dimensions entre les échantillons »long« et »court« de chrysotile sont beaucoup moins nettes que celles de l'échantillon d'amosite, la différence entre les deux échantillons de chrysotile apparaissant pour des longueurs supérieures (voir notes du Tableau 3). Dans une étude utilisant plusieurs variétés de fibres minérales naturelles ou synthétiques, Stanton *et al.* (1977), en implantant des fibres dans la cavité pleurale, ont observé une relation entre la probabilité de survenue de tumeurs et la proportion de fibres longues ($> 8\mu\text{m}$) et fines ($\leq 0.25\mu\text{m}$) contenues dans l'échantillon. Dans un autre ajustement statistique, la coupure était située à $L > 5\mu\text{m}$ et diamètre $\leq 1.5\mu\text{m}$. Le paramètre dimensionnel joue donc un rôle très important dans la cancérogénicité des fibres (Oehlert, 1991). Cela résulte vraisemblablement de deux causes : - d'une part du potentiel cytotoxique et génotoxique des fibres longues (voir plus loin) plus grand que celui des fibres courtes ; - d'autre part de l'épuration plus importante des fibres courtes, par rapport aux fibres longues (Holmes & Morgan, 1980 ; Roggli & Brody, 1984 ; Roggli *et al.*, 1987 ; Oberdörster *et al.*, 1988 ; Bellman *et al.*, 1994).

Si les caractéristiques dimensionnelles des fibres d'amiante sont un paramètre important qui influence la cancérogénicité observée en expérimentation animale, ces paramètres ne suffisent toutefois pas, à eux seuls, à rendre compte du pouvoir cancérogène. Dans une étude portant sur la tumorigénicité de divers échantillons de chrysotile, il a été observé que des potentiels différents entre plusieurs échantillons pouvaient en outre s'expliquer par une différence de composition chimique des fibres (Monchaux *et al.*, 1981). Une modification préalable de la composition chimique des fibres (solubilisation du magnésium par traitement acide) s'accompagnait d'une diminution de la cancérogénicité, ce qui suggérait que, directement ou indirectement, la composition chimique des fibres modulait leur activité. Une relation inverse a été mise en évidence entre la perte en magnésium et la tumorigénicité (Jaurand, 1991).

3.5.2. Biopersistence

Les études expérimentales ont permis de déterminer le taux de rétention, c'est-à-dire la proportion de fibres retenues dans le poumon par rapport à la quantité de fibres inhalées, et la comparaison de la persistance des fibres selon leur nature, au cours du temps. Sans vouloir détailler les études réalisées dans ce domaine, ce qui sortirait du cadre de ce document, on peut considérer que pour une exposition de l'ordre de 10 mg/m^3 , un rat exposé aura pu inhaler, pendant toute la durée de sa vie, une quantité de fibres d'environ 10^{11} à 10^{12}

fibres¹ (selon la nature des fibres et leur nombre par unité de poids). Ceci correspond à des concentrations, dans l'aérosol, de l'ordre de 5×10^3 à 10^4 fibres/ml². Dans les poumons, la quantité retrouvée est d'environ 10^8 à 10^{10} fibres par poumon³, ce qui représente moins de 1 % des fibres susceptibles d'être inhalées. Ces données ne tiennent pas compte de tous les paramètres différentiels (nature des fibres, dimensions), mais sont une indication des relations entre exposition et rétention.

La biopersistance est une notion complexe qui peut être définie comme la durée de rétention des fibres dans le poumon, il apparaît que c'est un concept fondé sur l'existence de différents mécanismes qui interviennent dans la modulation de cette durée. Les études expérimentales ont montré que la biopersistance des fibres de chrysotile était inférieure à celle des amphiboles (Wagner *et al.*, 1974 ; Davis *et al.*, 1978 ; Davis & Jones, 1988 ; Churg *et al.*, 1989 ; Churg, 1994). Aucune relation quantitative entre la biopersistance et le pouvoir tumorigène chez l'animal n'a, jusqu'ici, été clairement établie. La stabilité physique (épuration, défibrillation) et chimique (dissolution) des fibres sont des paramètres à prendre en compte pour expliquer la biopersistance. En effet, d'une part les mécanismes d'épuration par les macrophages alvéolaires et la voie lymphatique réduisent la quantité de fibres intrapulmonaire ; d'autre part, les fibres en rétention peuvent subir une défibrillation (Cook *et al.*, 1982 ; Roggli *et al.*, 1987 ; Bellman *et al.*, 1987) car, en fait, une fibre n'est qu'un « fagot » de plusieurs fibrilles qui peut être plus ou moins facilement dissocié par des processus mécaniques et/ou chimiques (Davis, 1994 ; Morgan, 1994). Enfin, les fibres peuvent être plus ou moins dégradées par le milieu biologique en fonction de leur nature chimique, ce qui peut conduire à une réduction de leurs dimensions et à une fragmentation, comme c'est le cas pour les très longues fibres de crocidolite ($> 40 \mu\text{m}$), ainsi que pour

¹ Cette valeur tient compte de la dose cumulée ($F \times \text{ml}^{-1} \times \text{hr}$) sur la vie d'un rat, multipliée par la quantité d'air inhalée par le rat durant la période d'exposition. Si un rat inhale 14 000 ml par heure, la dose de fibres « inhalable » sera égale à la dose cumulée multipliée par ce facteur. Ces valeurs sont données en exemple pour une dose cumulée de 10^7 à $3 \times 10^8 F \times \text{ml}^{-1} \times \text{hr}$.

² Il est difficile, en quelques lignes, de définir la teneur en fibres des aérosols utilisés en expérimentation animale. En effet, les conditions varient d'une étude à l'autre et les données ne sont pas homogènes entre les différentes études. Certains auteurs expriment les données en nombre total de fibres ; d'autres ne reportent les valeurs que pour les fibres de certaines dimensions. Par ailleurs, les méthodes de numérations sont différentes ; certaines mesures étant effectuées en microscopie optique (MO), d'autres en microscopie électronique à transmission (MET) ; d'autres enfin en microscopie électronique à balayage (MEB). On peut citer quelques exemples : la concentration en fibres dans l'aérosol de chrysotile long utilisé par Davis *et al.*, 1988 (MO, fibres $> 5 \mu\text{m}$) est 5510 F/ml. L'échantillon de chrysotile utilisé par Le Bouffant *et al.*, 1984-1987 comportait 168 000 F/ml ; celui de Mast *et al.*, 1995 : 100 000 F/ml. Smith *et al.*, 1987 et Mc Connell *et al.*, 1994 indiquent respectivement des concentrations de 3000 et 4214 F/ml pour le crocidolite. On peut calculer que, pour des expositions de 3640 heures (7 heures par jour, 5 jours par semaine pendant 2 ans), une exposition à 3000 F/ml ou 100 000 F/ml correspondront respectivement à une dose cumulée de l'ordre de 10^7 et $3,6 \times 10^8 F \times \text{ml}^{-1} \times \text{hr}$.

³ Par exemple Smith *et al.* (1987) trouvent $3,9 \times 10^9 F$ de crocidolite/g de poumon sec ; McConnell *et al.* (1994) trouvent $7 \times 10^9 F/g$. Pour le chrysotile, Mast *et al.* (1995) ont trouvé que les poumons contenaient environ $1,9 \times 10^{10} F/g$.

le chrysotile (Kimizuka *et al.*, 1987 ; Bellman *et al.*, 1994 ; Churg, 1994). On conçoit que tous ces changements ont pour conséquence que la teneur en fibres du poumon varie au cours du temps, tant par le nombre que par les dimensions. Il est à noter que ces variations peuvent être négatives (épuration et solubilité vont dans le sens d'une diminution en nombre de fibres), mais également positives (la défibrillation et la dissolution, qui conduirait à une fragmentation peuvent aboutir à une augmentation du nombre de fibres). Ces évidences font penser que la charge pulmonaire déterminée à un instant donné ne représente qu'une photographie d'un processus cinétique et ne peut refléter, avec la même fidélité, le niveau d'exposition à différents types de fibres.

Ainsi, sur le plan quantitatif, la biopersistance apparaît comme une notion multiparamétrique dont la valeur dépend de plusieurs variables (dimensions, capacité de défibrillation, solubilité en milieu biologique, potentiel d'épuration de l'hôte, etc...). Une définition plus précise s'impose si l'on veut déterminer le rôle exact de ce paramètre dans la cancérogénicité. Jusqu'ici, aucun ensemble de critères objectifs ne permet une évaluation quantitative de la biopersistance, et la biopersistance est mesurée par différentes méthodes. Selon les auteurs, on détermine le nombre, les dimensions et la composition chimique des fibres après inhalation [6h, 5 jours] (Berstein *et al.*, 1994 ; Warheit *et al.*, 1994) ou par administration intra-trachéale ou intrapéritonéale (Morgan, 1994 ; Pott *et al.*, 1994 ; Muhle *et al.*, 1994). Les mesures cinétiques peuvent permettre de calculer la demi-vie des fibres en rétention, mais aucun accord n'a été établi pour évaluer cette demi-vie en terme de masse, de chimie, de surface (Oberdörster *et al.*, 1994) ou de nombre de fibres (Bellman *et al.*, 1994 ; Muhle *et al.*, 1994).

3.5.3. Production d'espèces moléculaires réactives

Il a été montré, à l'aide de systèmes acellulaires *in vitro* (voir ci-dessous) que les fibres d'amiante avaient la capacité de produire des espèces moléculaires dérivées de l'oxygène [radicaux libres, molécules oxydantes] (Gulumian & Van Wyk, 1987 ; Weitzman & Graceffa, 1984 ; Zalma *et al.*, 1987 ; Leander-son *et al.*, 1988 ; Ghio *et al.*, 1992 ; Kamp *et al.*, 1992 ; Mahmood *et al.*, 1994 ; Pezerat, 1991). Étant donné le potentiel clastogène et cancérogène de ces molécules (Vuillaume, 1987 ; Imlay & Lin, 1988 ; Moyer *et al.*, 1994), ces phénomènes ont été pris en considération pour rendre compte des mécanismes de cancérogénicité des fibres. Bien que plusieurs études aient démontré une relation entre la cytotoxicité des fibres sur des cellules en culture et la production d'espèces actives dérivées de l'oxygène (Mossman *et al.*, 1986 ; Hansen & Mossman, 1987 ; Shatos *et al.*, 1987 ; Garcia *et al.*, 1988 ; Goodlick *et al.*, 1989 ; Kamp *et al.*, 1989 ; Kamp *et al.*, 1992 ; Vallyathan *et al.*, 1992 ; Ishizaki *et al.*, 1994 ; Kinnula *et al.*, 1994 ; Dong *et al.*, 1994 ; Hill *et al.*, 1995), très peu d'études *in vivo* ont jusqu'ici été réalisées dans ce domaine et la relation existant entre ces deux paramètres n'est pas établie. Un seul travail a été publié ; il a montré qu'il n'y avait pas de corrélation entre la production de

radical hydroxyle OH° dans un système acellulaire et la production de tumeurs péritonéales après inoculation (Maples & Johnson, 1992). Dans une autre étude, Schapira *et al.*, (1994) ont détecté, à l'aide d'un capteur de OH° (salicylate), la formation de OH° dans le poumon de rat, après instillation de fibres de chrysotile préalablement chargées en fer. Toutefois, ce travail ne comportait pas d'étude de la fréquence de tumeurs produites par le traitement. L'importance de la production d'espèces moléculaires réactives dans la cancérogénicité par les fibres reste donc à préciser.

4. Effets cellulaires des fibres d'amiante

Les recherches sur systèmes cellulaires isolés sont d'un grand intérêt car elles permettent d'étudier les mécanismes d'action au niveau cellulaire et de proposer des modèles expérimentaux alternatifs à l'expérimentation animale. Le tableau 5 résume les principales conclusions. Il faut mentionner toutefois que

Tableau 5 : Résumé des effets des fibres d'amiante sur des cellules en culture

Effets des fibres d'amiante sur des cellules en culture, en relation avec un potentiel transformant et/ou génotoxique	
1	Cellules de hamster, souris, rat : Transformation cellulaire caractérisée par une perte de l'inhibition de contact entre les cellules (Hesterberg & Barrett, 1984 ; Patérou <i>et al.</i> , 1985 ; Mikalsen <i>et al.</i> , 1988 ; Lu <i>et al.</i> , 1988 ; Athanassiou <i>et al.</i> , 1992) ou l'apparition de clones cellulaires poussant en milieu semi-solide [cas des cellules mésothéliales après plusieurs traitements par le chrysotile] (Saint-Etienne <i>et al.</i> , 1993)
2	Détection de cassures de l'ADN et mise en évidence d'une réparation (Turver <i>et al.</i> , 1987 ; Libbus <i>et al.</i> , 1989 ; Renier <i>et al.</i> , 1990 ; Dong <i>et al.</i> , 1995)
3	Mutations géniques : Peu d'effet mutagène sur cellules procaryotes¹. Pas d'effet mutagène évident sur cellules eucaryotes²
4	Mutations chromosomiques sur cellules eucaryotes [3 études] (Hei <i>et al.</i> , 1992 ; Both <i>et al.</i> , 1994 ; Both <i>et al.</i> , 1995)
5	Effet clastogène sur cellules épithéliales ou fibroblastes [aberrations chromosomiques structurales, y compris formation de micronoyaux] (Lavappa <i>et al.</i> , 1975 ; Sincock & Seabright, 1975 ; Huang <i>et al.</i> , 1978 ; Babu <i>et al.</i> , 1980 ; Sincock <i>et al.</i> , 1982 ; Valério <i>et al.</i> , 1983 ; Oshimura <i>et al.</i> , 1984 ; Jaurand <i>et al.</i> , 1986 ; Kesley <i>et al.</i> , 1986 ; Hesterberg <i>et al.</i> , 1987 ; Kodama <i>et al.</i> , 1987 ; Palekar <i>et al.</i> , 1987 ; Athanassiou <i>et al.</i> , 1992 ; Lu <i>et al.</i> , 1994 ; Donaldson & Golyasny, 1995 ; Dopp <i>et al.</i> , 1995). Sur cellules mésothéliales humaines, des aberrations chromosomiques ont été décrites [au total 5 cas étudiés] (Lechner <i>et al.</i> , 1985 ; Olofsson & Mark, 1989) ; dans un autre travail, les résultats dépendaient du donneur [2 cas positifs sur 6 cas étudiés] (Pelin <i>et al.</i> , 1995a)
6	Anomalies de ségrégation des chromosomes (Hesterberg & Barrett, 1985 ; Palekar <i>et al.</i> , 1987 ; Pelin <i>et al.</i> , 1992 ; Yegles <i>et al.</i> , 1995)
7	Aneuploidie, polyploidie [incluant la formation de cellules binucléées] (Sincock & Seabright, 1975 ; Huang <i>et al.</i> , 1978 ; Price-Jones <i>et al.</i> , 1980 ; Sincock <i>et al.</i> , 1982 ; Jaurand <i>et al.</i> , 1983 ; Valério <i>et al.</i> , 1983 ; Oshimura <i>et al.</i> , 1984 ; Jaurand <i>et al.</i> , 1986 ; Kesley <i>et al.</i> , 1986 ; Hesterberg <i>et al.</i> , 1987 ; Kodama <i>et al.</i> , 1993 ; Palekar <i>et al.</i> , 1987 ; Athanassiou <i>et al.</i> , 1992 ; Pelin <i>et al.</i> , 1995b)

¹ Sur 4 études, 3 sont négatives (Chamberlain & Tarmy, 1977 ; Cleveland *et al.*, 1984 ; Athanassiou *et al.*, 1992), une est positive (Faux *et al.*, 1994).

² Une faible mutagénicité a été trouvée dans une étude (Huang, 1979). Pas de mutagénicité dans 4 autres études (Reiss *et al.*, 1982 ; Oshimura *et al.*, 1984 ; Kenne *et al.*, 1986 ; Hei *et al.*, 1992)

les résultats peuvent différer d'un système à l'autre, étant donné la grande diversité des systèmes exploités (types de cellules, conditions expérimentales, type de critère évalué).

4.1. Effets en relation avec un potentiel génotoxique et cancérogène

4.1.1. Mutagénicité et endommagement de l'ADN

Les études *in vitro*, sur modèles cellulaires isolés ont montré que les fibres d'amiante produisaient un faible (voire nul) effet mutagène, du moins pour ce qui concerne la formation de mutations géniques [Tableau 5]. En revanche, grâce à l'utilisation de cellules hybrides (Hei *et al.*, 1992) et de techniques plus sophistiquées des mutations chromosomiques ont été observées, qui témoignent que les fibres peuvent altérer le génome des cellules en provoquant des délétions (Hei *et al.*, 1992 ; Both *et al.* 1994). Ces différences de résultats peuvent être dues aux types de méthodes utilisées qui, dans le premier cas, ne permettent généralement pas de mettre en évidence de larges mutations si des gènes essentiels à la survie cellulaire sont altérés. Ainsi, un potentiel mutagène et clastogène (cassant le matériel génétique) de certaines fibres (amiantes, érionite) a été démontré. Les études recherchant des mutations plus larges du génome sont encore peu nombreuses et des résultats complémentaires seront probablement obtenus au cours des années à venir. La mutagenèse induite par les fibres résulte vraisemblablement de la formation de molécules dérivées de l'oxygène, comme en témoigne la protection exercée par les antioxydants (Hei *et al.*, 1995). La formation de molécules toxiques peut être liée à la phagocytose. En effet, il a été montré, avec certaines cellules, que lorsque des fibres arrivent au contact de la membrane, un processus de phagocytose s'engage. Ce mécanisme est par ailleurs connu pour générer différentes molécules tel l'ion superoxyde qui, en interagissant avec des constituants cellulaires, peut provoquer la formation de molécules plus stables douées d'activité clastogène. Toutefois, ces espèces ont une durée de vie très brève et ne peuvent réagir que localement ; il est donc peu probable qu'elles atteignent l'ADN et provoquent directement un effet mutagène. Des dérivés secondaires plus stables peuvent être formés (produits de peroxydation des lipides par exemple).

Un endommagement de l'ADN a pu être détecté avec divers types de cellules, incluant les cellules mésothéliales pleurales de rat par la mise en évidence de réparation ou de l'activation de systèmes enzymatiques stimulés par la formation de cassure [Tableau 5]. Toutefois, certaines cellules, telles que les hépatocytes de rat ne montrent pas de réparation de l'ADN après traitement par des fibres de chrysotile (Denizeau *et al.*, 1985).

4.1.2. Anomalies chromosomiques

Lorsque les cellules se divisent, d'autres types d'interactions fibres-cellules peuvent se produire et d'autres effets peuvent être observés, plus particulièrement au niveau des chromosomes (Wang *et al.*, 1987 ; Rieder *et al.*, 1991 ;

Cole *et al.*, 1991 ; Ault *et al.*, 1995 ; Dopp *et al.*, 1995). Il faut savoir que, si une lésion de l'ADN a été occasionnée par un agent donné, il existe des systèmes de réparation qui sont activés par la cellule. Une réparation est effectuée mais celle-ci peut ne pas être totalement fidèle et des anomalies pourront subsister. Durant la métaphase de la mitose, des endommagements du matériel génétique peuvent être mis en évidence par l'observation des métaphases (anomalies de structure des chromosomes : cassures, fragments, échanges). Au cours de l'anaphase, les chromosomes subissent une migration vers les pôles cellulaires, ce qui permet la génération de deux cellules filles. Il a été montré que la présence de fibres dans les cellules provoquait une altération de la ségrégation des chromosomes dans un pourcentage significatif de cellules (Hesterberg & Barrett 1985 ; Palekar *et al.* 1987 ; Yegles *et al.*, 1995). Ceci semble dû à l'accrochage des fibres dans le cytosquelette des cellules, avec pour conséquence une entrave au mouvement des chromosomes, plutôt qu'à une interaction d'emblée directe avec les chromosomes (Ault *et al.*, 1995). Dans ces processus, les fibres longues, de plus de 5 µm de long, sont plus réactives que les fibres courtes, dont la présence semble mieux tolérée et qui suivent les structures cellulaires dans leurs déplacements (Cole *et al.*, 1991). Ces processus de ségrégation anormale des chromosomes peuvent avoir pour conséquence la formation de cellules qui possèdent un déficit ou un excès de matériel génétique, par rapport à une cellule normale. Une aneuploidie des cellules a fréquemment été observée après traitement par des fibres d'amiante⁴.

4.1.3. Effet promoteur

Plusieurs études réalisées sur cellules en culture indiquent que les fibres d'amiante ont des propriétés comparables à celles de promoteurs, tel le TPA : le chrysotile et le crocidolite induisent une activation de l'ODC dans des cellules trachéales de hamster (Marsh & Mossman, 1991), et une activation de la PKC (Perderiset *et al.*, 1991) par le crocidolite a été décrite. En revanche, aucun effet n'a été observé sur la coopération métabolique entre les cellules, alors que le TPA exerçait généralement un effet inhibiteur (Chamberlain, 1982). La production d'ion superoxyde O₂⁻ mise en évidence avec plusieurs types cellulaires traités par les fibres d'amiante peut être aussi à rapprocher d'un effet promoteur ; mais on sait que cette molécule peut aussi provoquer des altérations de l'ADN et des chromosomes. Dans ce contexte, on ne peut faire que des hypothèses sur l'engagement de O₂⁻ dans l'une ou/et l'autre des étapes de la transformation. L'action épigénétique ou génétique (altération de l'ADN) de cette molécule pourrait dépendre de la capacité des cellules à réagir à cette molécule (production de molécules génotoxiques plus stables qui pourraient atteindre l'ADN ou action locale, induction de voies de signalisation). Ces réactions pourraient dépendre du type cellulaire considéré.

4.1.4. Transformation

La transformation néoplasique des cellules est associée à un certain nombre de modifications du phénotype cellulaire. Les recherches effectuées avec les fibres d'amiante ont montré que les cellules subissaient des changements phénotypiques (perte d'inhibition de contact, critères morphologiques) associés à la transformation [Tableau 5]. Dans leur travail sur fibroblastes de souris, Lu *et al.*, (1988) ont étudié l'effet des fibres d'amiante en tant qu'initiateur, utilisant le TPA comme promoteur. Ces auteurs ont constaté que les résultats étaient compatibles avec une activité initiatrice des fibres. De même, Mikalsen *et al.* (1988) considèrent que les résultats obtenus dans les tests de transformation, sur cellules embryonnaires de hamster, étaient plus en faveur d'un effet initiateur des fibres. Dans ce même travail, les auteurs n'ont pas observé d'effet co-cancérogène entre l'amiante et le benzo(a)pyrène, en désaccord avec ce qui avait été décrit par d'autres auteurs utilisant le même type cellulaire (Di Paolo *et al.*, 1983). On peut noter aussi que Hei *et al.* (1984) sur fibroblastes de souris, ont observé un effet co-cancérogène avec des radiations si les fibres étaient appliquées avant les radiations et non après.

Ces résultats vont dans le sens d'un potentiel des fibres d'amiante en tant que cancérogène complet, c'est-à-dire se suffisant à elles seules pour provoquer les modifications nécessaires à la transformation. En effet, il semble bien que l'amiante puisse être considéré comme un cancérogène complet, possédant à la fois des propriétés initiatrices et promotrices. Pour exercer un potentiel tumorigène *in vivo*, l'amiante ne nécessite pas l'application de cofacteur ; de même, les fibres produisent une transformation des cellules en culture. Si les fibres d'amiante sont considérées comme agissant par un mécanisme épigénétique (Mossman & Craighead, 1981), c'est sur la base de leur faible potentiel à produire des mutations géniques. Cependant, les fibres d'amiante peuvent aussi produire des mutations chromosomiques, ce qui permet de leur attribuer un certain potentiel génotoxique (Barrett *et al.*, 1990 ; Everitt, 1994 ; Jaurand, 1991 ; Moyer *et al.*, 1994 ; Voytek *et al.*, 1990 ; Walker *et al.*, 1992).

4.2. Caractéristiques des fibres qui conditionnent la réactivité

4.2.1. Dimensions et production d'espèces actives dérivées de l'oxygène

Plusieurs études ont montré que la cytotoxicité de fibres longues était plus grande que celle de fibres courtes (Hesterberg & Barrett, 1984 ; Brown *et al.*, 1986 ; Mossman *et al.*, 1986 ; Goodlick & Kane, 1990 ; Brown *et al.*, 1978 ; Donaldson *et al.*, 1992 ; Hart *et al.*, 1994). Il a été démontré que des échantillons broyés de fibres de chrysotile avaient une plus faible capacité à transformer les cellules de rongeurs que le même échantillon non broyé (Hesterberg & Barrett, 1984). Peu de travaux ont porté sur les effets génotoxiques en fonction de la taille des fibres. Récemment, une étude a montré que les différences de capacité d'échantillons d'amiante à produire des anaphases

anormales pouvaient être dues à des teneurs différentes en fibres correspondant aux critères précédemment définis par Stanton (Stanton *et al.*, (1977 et 1981) : un taux significatif d'anomalies n'était obtenu qu'avec les échantillons comportant des fibres dont les dimensions correspondaient à ces critères (Yegles *et al.*, 1995). Récemment, Donaldson et Golyasny (1995) ont observé qu'un échantillon de fibres d'amosite court utilisé dans l'expérimentation animale décrite ci-dessus ne produisait pas d'aberrations chromosomiques, contrairement à l'échantillon de fibres longues.

Certains effets toxiques des fibres sont liés à la production d'espèces actives de l'oxygène (Kamp *et al.*, 1992). Celles-ci sont produites, soit par les cellules (interactions, phagocytose), soit par les fibres elles-mêmes. Ces molécules sont, du moins partiellement, responsables de certains effets cytotoxiques des fibres, ainsi que de ceux observés au niveau du matériel génétique : cassures de l'ADN, réparations, mutations chromosomiques.

4.2.2. Type d'échantillon

Un point important qui a été souligné à la suite des études réalisées *in vitro* et qui corrobore les études *in vivo*, c'est la différence de réactivité qui peut exister entre plusieurs échantillons d'un même type de fibres. Il a été mentionné plus haut que des échantillons d'un même type de fibres peuvent en effet provenir de différents gisements, donc avoir des minéraux associés ou contaminants différents ; de plus, les méthodes utilisées pour la sélection d'une fraction respirable des fibres sont diverses et, à leur issue, la distribution granulométrique n'est pas identique d'une préparation à l'autre. Si, comme on l'a dit plus haut, le potentiel tumorigène de différents échantillons d'un type donné de fibres n'est pas identique chez l'animal, il en est de même pour les études *in vitro*. Par exemple, dans le travail mentionné ci-dessus (Yegles *et al.*, 1995) le pourcentage de cellules présentant des anomalies de l'anaphase variait de 0 à 20 % pour un nombre donné de fibres de chrysotile.

4.3. Effets observés sur cellules mésothéliales

L'effet des fibres sur les cellules mésothéliales pleurales a été étudié en utilisant, soit des cellules de rat, soit des cellules humaines, lorsque cela était possible. Les différentes études réalisées *in vitro* ont montré que l'amiante produisait un endommagement de l'ADN (Renier *et al.*, 1990 ; Dong *et al.*, 1995) et une augmentation d'anomalies chromosomiques (Lechner *et al.*, 1985 ; Jaurand *et al.*, 1986 ; Pelin *et al.*, 1992 ; Pelin *et al.*, 1995a ; Yegles *et al.*, 1995). Les effets sur l'ADN sont liés à la production d'espèces réactives dérivées de l'oxygène, résultant vraisemblablement des interactions membrane cellulaire-fibres ; les anomalies de ségrégation des chromosomes sont associées aux caractéristiques physiques des fibres, comme cela a été décrit plus haut. Avec des cellules provenant de différents donneurs, la production d'anomalies n'était pas observée pour tous les sujets, ce qui suggère une réponse différente selon le donneur (Pelin *et al.*, 1995a).

L'interaction entre les cellules mésothéliales et les fibres provoque l'activation du facteur de transcription AP-1 (Janssen *et al.*, 1994). Le rôle de l'activation de ces derniers dans les mécanismes liés à la cancérogénèse reste à préciser. L'application de fibres d'amiante à des cellules en phase de croissance provoque, à court terme, un arrêt de la prolifération cellulaire qui peut être mis à profit par la cellule pour réparer les lésions faites à son ADN (Dong *et al.*, 1994). Par ailleurs, lorsque des fibres sont inhalées ou déposées par instillation dans le poumon, on observe, après un délai de plusieurs jours, une augmentation de la prolifération des cellules mésothéliales pleurales (Adamson *et al.*, 1993). Ceci suggère que des facteurs circulants ou produits par les cellules *in situ* stimulent la division cellulaire et/ou qu'un processus de régénération cellulaire fait suite à l'agression. Une réaction similaire a pu être observée avec d'autres particules. Ainsi, une prolifération des cellules, suite à une exposition par inhalation, pourrait provoquer une modification du taux de renouvellement des cellules, et favoriser l'expression de cellules dont le génome est altéré par le contact avec les cellules. L'addition de ces mécanismes : lésionnels, de réparation et de prolifération, peut jouer un rôle important dans l'émergence de populations cellulaires transformées.

Peu d'études ont analysé les corrélations *in vivo/in vitro* et il serait très intéressant d'avoir davantage de résultats dans ce domaine. Les données existantes montrent que l'importance des paramètres dimensionnels des fibres ressort à la fois des études *in vivo* et *in vitro* (Yegles *et al.*, 1995 ; Donaldson & Golyasnya, 1995).

5. Réactivité des fibres d'amiante *in vitro* Systèmes expérimentaux acellulaires

La capacité des fibres à produire des molécules potentiellement génotoxiques, tel le radical hydroxyle (OH°), a été étudiée *in vitro* à l'aide de systèmes acellulaires. Le radical hydroxyle est formé de différentes manières, au cours de réactions d'oxydo-réduction qui font intervenir par exemple la décomposition de l'eau oxygénée en présence de fer (réaction de Fenton). Ce radical est instable mais peut réagir localement très rapidement en donnant naissance à d'autres molécules beaucoup plus stables. La détection de OH° peut être effectuée *in vitro* en mesurant, soit directement la quantité de molécules produites après réaction avec une molécule permettant la formation d'un composé plus stable (Weitzmann & Graceffa, 1984 ; Zalma *et al.*, 1987), soit indirectement les dommages faits à un nucléoside ou à un extrait d'ADN, en solution (Kasai & Nishimura, 1984 ; Adachi *et al.*, 1992). Dans ce cas, on mesure généralement la quantité de 8-hydroxydeoxyguanosine (8-OHdG) résultant de l'interaction entre OH° et la guanine constitutive des acides nucléiques. Les fibres d'amiante seules produisent une hydroxylation, mais la quantité de 8-OHdG formée est augmentée par certains agents tels que l'eau

oxygénée, H_2O_2 , molécule qui peut être produite lors des interactions cellules-fibres, plus particulièrement au cours de la phagocytose. La quantité de 8-OHdG formée dans l'ADN dépend fortement des conditions expérimentales (présence d'agents chélateurs par exemple) et il est difficile de relier ces effets *in vitro* à ce qui passerait au niveau de l'ADN cellulaire. Une seule étude a été jusqu'ici effectuée pour mesurer l'hydroxylation de la guanine produite par l'amiante sur l'ADN cellulaire. Il s'agissait de cellules lymphocytaires traitées par le crocidolite. Les résultats ont montré une augmentation significative passant de 2 bases altérées par 10^5 dG pour les cellules non traitées à 3 pour 10^5 bases pour les cellules traitées par 50 $\mu\text{g/ml}$ de crocidolite (Takeuchi & Morimoto, 1994).

Ces études témoignent d'un potentiel des fibres d'amiante à provoquer des lésions de l'ADN. Toutefois, l'extrapolation à un mécanisme opérant *in vivo* doit être faite avec prudence, en raison du grand nombre de facteurs qui modulent, quantitativement, la réponse *in vitro*. L'existence de bases anormales peut conduire à la formation de mutations dans l'ADN. Le rôle exact de la formation de 8-OHdG en cancérogénèse est actuellement discuté (Floyd, 1990) ; cependant, on a déjà pu constater des effets *in vivo*, notamment avec des composés formants des adduits à l'ADN.

6. Les études expérimentales reflètent-elles les observations faites chez l'homme ?

La comparaison entre les études expérimentales et les observations faites chez l'homme est un point critique qui mérite une discussion. Concernant les résultats obtenus avec l'amiante, une bonne corrélation est obtenue entre les effets sur systèmes cellulaires et les études chez l'animal ; l'analyse des relations entre les évidences expérimentales et épidémiologiques conduit à poser certaines questions.

6.1. Comparaison entre les caractéristiques des tumeurs induites par l'amiante et les mécanismes d'action des fibres

Étant donné que le cancer du poumon peut être dû à l'exposition à d'autres cancérogènes, tels que la fumée de cigarettes, il est plus intéressant, pour comparer les résultats expérimentaux et les données chez l'homme, de s'intéresser au mésothéliome qui est le plus souvent lié à l'exposition aux fibres. Sur le plan des mécanismes, les observations faites *in vitro* pourraient expliquer les caractéristiques des tumeurs induites par l'amiante.

Les mésothéliomes ont un caryotype complexe, présentant de nombreuses anomalies qui mettent en jeu des modifications numériques et structurales des chromosomes (Hagemeyer *et al.*, 1990 ; Tinainen *et al.*, 1989). Jusqu'ici, les

cellules de mésothéliome montrent peu de mutations ponctuelles dans des gènes critiques, à l'inverse de ce qui est trouvé dans d'autres cancers, par exemple au niveau des gènes suppresseurs de tumeur, *RB*, *P53* ou de l'oncogène *RAS* (Metcalf *et al.*, 1992 ; Shimizu *et al.*, 1994). En revanche, un certain nombre de délétions ont été rapportées. Plusieurs articles concernent l'étude de *p16* (gène codant pour une protéine régulant la prolifération cellulaire) dans les mésothéliomes ; ils ont montré que la plupart des mésothéliomes présentaient des délétions du gène *p16* ; l'absence d'expression des messagers et de la protéine a été également mise en évidence (Okamoto *et al.*, 1994 ; Kratzke *et al.*, 1995 ; Cheng *et al.*, 1994 ; Xiao *et al.*, 1995). Aucun gène ne semble spécifiquement muté dans le mésothéliome. Une mutation sur le gène *WT-1* a été détectée dans un type particulier de mésothéliome mais aucune mutation n'a été trouvée dans 32 mésothéliomes pleuraux survenus chez des sujets considérés comme exposés à l'amiante (Amin *et al.*, 1995 ; Langerak *et al.*, 1995 ; Park *et al.*, 1993). Plus récemment cependant, deux études ont démontré que le gène *NF2* était délété dans de nombreux mésothéliomes (Bianchi *et al.*, 1995 ; Sekido *et al.*, 1995). avec notamment une perte d'hétérozygotie dans 50 % des cas. Il s'agit d'un gène codant pour une protéine qui joue un rôle, encore mal défini, de liaison entre la membrane cellulaire et les protéines du cytosquelette. Des mutations de ce gène sont connues dans des déficits génétiques transmissibles associés à la survenue de méningiomes et de schwannomes. Chez ces sujets, aucune augmentation de mésothéliomes n'a toutefois été mise en évidence. Les mutations observées peuvent donc avoir été provoquées par les fibres d'amiante. Jusqu'ici le mésothéliome ne semble pas lié à des traits génétiques spécifiques. On peut toutefois signaler que, dans un travail récent, Hirvonen *et al.* (1995) ont constaté une augmentation du risque mésothéliome chez des sujets fortement exposés à l'amiante, présentant un génotype *GSTM1* (Glutathion S transférase) et *NAT2* (acétylateur lent). Ces gènes codent pour des enzymes impliquées dans la détoxication. Toutefois, comme les auteurs l'indiquent, cette étude porte sur un petit nombre de cas et les résultats devront être confirmés.

Il est remarquable que les fibres d'amiante produisent des changements numériques et structuraux sur les chromosomes de différents types de cellules en culture et ont, au sens de la mutagenèse ponctuelle, un faible pouvoir mutagène. De tels remaniements chromosomiques sont également observés dans les tumeurs produites chez l'animal (Libbus *et al.*, 1988). Ici donc il n'y a pas de contradiction entre observations chez l'homme d'une part, et les données expérimentales d'autre part. Les modèles cellulaires ont apporté des hypothèses sur les mécanismes d'action possibles des fibres ; si les interactions directes des fibres avec certains constituants cellulaires jouent un rôle dans la génération des effets en intervenant sur la répartition du matériel génétique, la part prise par les espèces radicalaires et les molécules actives dérivées de l'oxygène reste à définir, au sens mutationnel direct.

6.2. Caractéristiques des fibres qui conditionnent la réponse expérimentale

Il est clairement apparu, lors des recherches effectuées chez l'animal, que la cancérogénicité d'un type donné de fibres était fonction des caractéristiques dimensionnelles, sans que toutefois cela soit le seul paramètre important. Des paramètres dimensionnels des fibres dépend à la fois la quantité de fibres déposée dans le poumon et celle qui y est retenue ; de plus, le potentiel cancérogène des fibres apparaît plus élevé pour les fibres longues que pour les fibres courtes. Cela a été démontré aussi bien à l'aide d'études faites chez l'animal, comme cela a été décrit plus haut, que par des recherches expérimentales à l'aide de modèles cellulaires animaux ou humains. Tant par leur capacité à provoquer des anomalies chromosomiques que par celle à produire des espèces réactives dérivées de l'oxygène et à exercer une cytotoxicité, les fibres longues sont plus toxiques que les fibres courtes, ce qui n'implique pas l'innocuité de ces dernières.

Chez l'homme, il y a assez peu de données sur la fréquence des tumeurs selon les caractéristiques dimensionnelles des fibres auxquelles les sujets ont été exposés. Les données dans ce domaine sont difficiles à obtenir rétrospectivement, mais des informations devraient apparaître désormais en raison du développement récent d'études épidémiologiques de mieux en mieux documentées. Le risque mésothéliome, plus élevé dans une cohorte d'ouvriers du textile que chez des mineurs pourrait résulter d'une exposition à des fibres de chrysotile plus longues dans la première cohorte comparativement à la seconde (Dement 1991).

6.3. Réactivité différentielle entre chrysotile et amphiboles

Les études épidémiologiques ont indiqué un risque accru de mortalité par cancer du poumon ou par mésothéliome, indépendamment de l'origine minéralogique des fibres (voir chapitre 9). Les résultats expérimentaux obtenus chez l'animal ont démontré l'existence d'un potentiel cancérogène des deux types de fibres, quel que soit le type d'exposition, par inoculation ou par inhalation. Les recherches effectuées sur les modèles cellulaires sont en accord avec ces résultats. On constate donc une bonne adéquation entre les résultats expérimentaux et les données épidémiologiques.

Alors que le risque de mortalité par cancer du poumon n'est pas différent pour les fibres de différentes origines, le risque de mésothéliome est plus faible pour les sujets exposés majoritairement au chrysotile, comparativement à ceux exposés aux amphiboles ou à un mélange de fibres. Concernant la différence entre la réponse « cancer du poumon » et la réponse « mésothéliome », on peut constater que les études expérimentales par inhalation n'ont pas permis de différencier le potentiel cancérogène des fibres de différentes origines, étant donné le nombre très réduit de tumeurs pleurales observées [Tableau 3]. Si l'on se réfère aux résultats obtenus avec les échantillons de l'UICC, le risque

tumorigène était voisin pour le chrysotile, le crocidolite et l'amosite, par inoculation intrapéritonéale (Davis *et al.*, 1991). Toutefois, les études par inoculation intrapleurale reflètent un potentiel moindre du chrysotile, par rapport au crocidolite, sur la base du nombre de fibres correspondant aux critères de Stanton (Jaurand *et al.*, 1987). Les résultats obtenus avec les modèles de cellules mésothéliales en culture vont également dans ce sens (Yegles *et al.*, 1993).

Chez l'homme, la différence de pouvoir cancérogène entre les deux types de fibres par rapport à la localisation tumorale pourrait s'expliquer par une translocation moins importante du chrysotile par rapport aux amphiboles. En termes de biopersistance, on peut faire l'hypothèse que le chrysotile ayant tendance à être épuré plus facilement et à se fragmenter (Churg, 1994), il en résulte respectivement une moins grande disponibilité de ces fibres au niveau pleural et une migration de fibres de plus petites dimensions. Cette hypothèse serait tout à fait en accord avec les observations selon lesquelles la plèvre contenait des fibres de chrysotile de plus faible longueur moyenne que celles du poumon (Sébastien *et al.*, 1979 ; Viallat *et al.*, 1986). Des résultats récemment publiés avec des fibres de céramique montrent qu'après inhalation il y a, chez le rat, une translocation rapide des fibres vers la plèvre (un maximum est obtenu à la fin de la période d'exposition, ici de 5 jours), avec aussi une dimension moyenne des fibres de la plèvre plus petite que celle du poumon (Gelzichter *et al.*, 1996). Ceci n'exclut pas la possibilité qu'une faible proportion de fibres plus longues puisse se trouver au niveau de la plèvre (Sébastien *et al.*, 1980 ; Dodson *et al.*, 1990 ; Boutin *et al.*, 1996).

7. Apport des études expérimentales et mécanistiques en relation avec les problèmes actuels de l'exposition à l'amiante

La plupart des études expérimentales réalisées jusqu'ici ont eu pour objectif de définir les caractéristiques des fibres responsables de l'activité toxique et/ou cancérogène, et d'appréhender les mécanismes d'action. Ces questions étaient posées en raison des pathologies professionnelles observées. Dans le passé, les travailleurs étaient le plus souvent exposés à des doses importantes. Aujourd'hui, on se préoccupe du rôle de l'exposition à de faibles doses, essentiellement pendant des durées prolongées, ainsi que des effets de doses plus importantes pendant de courtes périodes. Peu d'études expérimentales ont abordé ces questions ; on mentionnera quelques résultats mais il est difficile, en raison du petit nombre de données, d'évaluer leur signification réelle.

7.1. Relations dose-effet

D'après les études expérimentales effectuées chez l'animal, la fréquence des tumeurs diminue avec la dose de fibres inoculées ou aérosolisées. Dans un 103

travail portant sur la fréquence de mésothéliomes, après inoculation intrapéritonéale de différents types de fibres chez le rat, Davis *et al.* (1991) ont étudié le risque relatif de mortalité par mésothéliome péritonéal. La courbe dose-réponse était linéaire (échelle log/log) pour les 4 types de fibres testés (amosite, crocidolite, érionte, chrysotile) entre les doses étudiées allant de 0.005 mg à 25 mg. Si cette linéarité était maintenue pour des doses inférieures, cela signifierait qu'il n'y a pas de valeur limite au-dessous de laquelle le risque n'existe plus. Cependant, chez l'animal, le temps de latence de la tumeur augmente lorsque la dose diminue ; ainsi une valeur seuil existerait en pratique, pour une dose telle que le temps de latence devient supérieur au temps de survie « naturelle » de l'animal.

A l'aide de modèles cellulaires, *in vitro*, des relations « dose-effet » ont été également déterminées sur le plan de l'évaluation du potentiel transformant et de la génotoxicité. Les concentrations minimales auxquelles les cellules sont exposées atteignent, pour obtenir des effets génotoxiques significatifs, environ 0,5 µg/cm², ce qui représente très approximativement 20 à 50 fibres par cellules (là encore, le rapport nombre de fibres/masse dépend du type de fibre). Il est très difficile de savoir à quoi cette valeur correspond *in vivo*. On peut supposer, sur la base pondérale que les cellules seraient exposées *in vitro* à environ 10¹¹ à 10¹² F/g alors que, pour le poumon, en expérimentation animale, des valeurs de 10⁸ à 10¹⁰ F/g ont été reportées. Chez l'homme, des valeurs très inférieures sont trouvées (voir chapitre se rapportant à ces données).

7.2. Effet d'expositions transitoires

Seulement deux études ont évalué l'effet d'expositions transitoires par rapport à une exposition continue (Wagner *et al.*, 1974, Davis *et al.*, 1980). Il s'agissait d'études par inhalation où des rats ont été exposés à différents types de fibres. Dans une étude (Wagner *et al.*, 1974), l'exposition avait une durée de 1 jour ou de 3 mois ; les résultats sont indiqués dans le Tableau 6. Dans un autre travail (Davis *et al.*, 1980), les animaux étaient exposés à des concentrations intermittentes élevées et à des concentrations continues plus faibles de chrysotile et de d'amosite (Tableau 7). Les auteurs ont constaté qu'il n'y avait pas d'effet significatif sur le taux de tumeurs dans les différents groupes de traitements. Dans l'ensemble, les informations sur les expositions transitoires sont donc très limitées et portent sur de petits échantillons. Les résultats ne peuvent donc être interprétés qu'avec prudence.

8. Conclusions

Les mécanismes de cancérogénèse par les fibres ne sont pas actuellement totalement élucidés, mais des évidences expérimentales convergentes existent. Les fibres d'amiante ont des effets pléiotropes dont certains peuvent être

Tableau 6 : Effets d'expositions transitoires (Wagner et al., 1974).

Type de fibres	Durée d'exposition	Nb rats de rats à risque ¹ / Nb rats exposés	Nb de rats avec tumeur pulmonaire	Nb rats avec mésothéliome
Contrôle	1 jour	44/48	4	0
	3 mois	40/58	3	0
	24 mois	42/48	0	0
Amosite	1 jour	45/49	3	1
	3 mois	37/52	10	0
	24 mois	21/21	13	0
Crocidolite	1 jour	43/49	6	1
	3 mois	36/52	14	1
	24 mois	18/20	13	0
Chrysotile CD ²	1 jour	42/49	1	0
	3 mois	34/52	18	0
	24 mois	21/24	10	1
Chrysotile RH ²	1 jour	45/49	5	0
	3 mois	36/52	16	0
	24 mois	17/20	8	0

¹ Nombre de rats en vie 300 jours après le début de l'exposition

² CD : canadien ; RH : rhodésien

Tableau 7 : Effet de pics d'exposition (Davis et al., 1980).

	Exposition	Nb tumeurs pulmonaires	Nb mésothéliomes
Chrysotile 10 mg/m ³	1 jour/semaine pendant 1 an	6/43	0/43
Chrysotile 2 mg/m ³	5 jours/semaine pendant 1 an	8/40	1/40
Amosite 50 mg/m ³	1 jour/semaine pendant 1 an	6/44	0/44
Chrysotile 10 mg/m ³	5 jours/semaine pendant 1 an	2/40	0/40

impliqués dans la transformation néoplasique. Des travaux complémentaires permettraient de mieux comprendre les mécanismes cellulaires et tissulaires qui aboutissent à la prolifération tumorale. Les études expérimentales ont apporté des informations pertinentes sur le potentiel tumorigène des fibres d'amiante. Si les caractéristiques dimensionnelles des fibres sont importantes dans la genèse de l'effet cancérogène, le rôle d'autres caractéristiques des fibres, en particulier l'importance de propriétés de surface, mérite d'être précisé. L'importance de la biopersistance doit être mieux définie, car aucun travail n'a démontré quantitativement la relation entre le pourcentage de tumeurs et la biopersistance, ou l'un des paramètres lié à ce concept. Il n'est pas inutile de souligner cette lacune car certains auteurs affirment aujourd'hui qu'une biopersistance faible est associée à une cancérogénicité faible. Aujourd'hui, cette hypothèse ne repose pas sur des bases scientifiques solides, d'une part en raison de l'absence d'une définition précise des paramètres qui

permettraient de quantifier la biopersistance, d'autre part en raison du manque d'études de corrélations entre la tumorigénicité et ces paramètres. Il reste aussi à connaître l'importance relative de la durée d'action possible d'un agent cancérigène par rapport à d'autres paramètres comme la dose, le rôle des interactions dans des temps précoces de l'action des fibres, ou les caractéristiques physiques (pour les fibres). Il apparaît important de souligner ces points, étant donné la prédominance actuelle de ce concept et sa prise en compte pour identifier des fibres de remplacement de l'amiante dépourvues d'effet potentiel nocif pour la santé.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- AARONSON SA. Growth factors and cancer. *Science*. 1991, **254** : 1146-1152.
- ADACHI S, KAWAMURA K, YOSHIDA S, TAKEMOTO K. Oxidative damage on DNA induced by asbestos and man-made fibers *in vitro*. *Int Arch Occup Environ Health*. 1992, **63** : 553-557.
- ADAMSON IYR, BAKOWSKA J, BOWDEN DH. Mesothelial cell proliferation after instillation of long or short asbestos fibers into mouse lung. *Am J Pathol*. 1993, **142** : 1209-1216.
- AMIN KM, LITZKY LA, SMYTHE WR, MOONEY AM, MORRIS JM, MEWS DJY, PASS H I, KARI C, RODECK U, RAUSCHER FJ, KAISER LR, ALBELDA SM. Wilms' tumor 1 susceptibility (WT1) gene products are selectively expressed in malignant mesothelioma. *Am J Pathol*. 1995, **146** : 344-356.
- ATHANASIOU K, CONSTANTOPOULOS SH, RIVEDAL E, FITZGERALD DJ, YAMASAKI H. Metsovo-tremolite asbestos fibres : *in vitro* effects on mutation, chromosome aberrations, cell transformation and intercellular communication. *Mutagenesis*. 1992, **7** : 343-347.
- AULT JG, COLE RW, JENSEN CG, JENSEN LCW, BACHERT LA, RIEDER CL. Behavior of crocidolite asbestos during mitosis in living vertebrate lung epithelial cells. *Cancer Res*. 1995, **55** : 792-798.
- BABU KA, LAKKAD BC, NIGAM SK, BHATT DK, KARNIK AB, THAKORE KN, KASHYAP SK, CHATTERJEE SK : *In vitro* cytological and cytogenetic effects of an Indian variety of chrysotile asbestos. *Environ Res*. 1980, **21** : 416-422.
- BARRETT JC, TSUTSUI T, TISTY T, OSHIMURA M. Role of genetic instability in carcinogenesis. In : *Genetic Mechanisms in Carcinogenesis and Tumor Progression.*, 1990 pp 97-114.
- BELLMAN B, MUHLE H, KAMSTRUP O, DRAEGER UF. Investigation on the durability of man-made vitreous fibers in rat lungs. *Environ Health Perspect*. 1994, **102**(Suppl 5) : 185-189.
- BELLMANN B, MUHLE H, POTT F, KÖNIG H, KLÖPPEL H, SPURNY K. Persistence of man-made mineral fibres (MMMF) and asbestos in rat lungs. *Ann Occup Hyg*. 1987, **31**(4B) : 693-709.

BERSTEIN DM, MAST R, ANDERSON R, HESTERBERG TW, MUSSELMAN R, KAMSTRUP O, HADLEY J. An experimental approach to the evaluation of the biopersistence of respirable synthetic fibers and minerals. *Environ Health Perspect.* 1994, **102**(Suppl 5) : 15-18.

BIANCHI AB, MITSUNAGA S, CHENG J, KLEIN W, JHANWAR SC, SEIZINGER B, KLEY N, KLEIN-SZANTO A, TESTA J. High frequency of inactivating mutations in the neurofibromatosis type 2 gene (NF2) in primary malignant mesothelioma. *Proc Natl Acad Sci, USA.* 1995, **92** : 10854-10858.

BLUMBERG PM. In vitro studies on the mode of action of the phorbol esters, potent tumor promoters : Part I. *CRC Critical Reviews in Toxicology.* 1980, **8** : 153-233.

BOHR VA. DNA repair fine structure and its relations to genomic instability. *Carcinogenesis.* 1995, **16** : 2885-2892.

BOHRMAN JS. Identification and assessment of tumor-premitting and cocarcinogenic agents : state-of-the-art *in vitro* methods. *CRC Critical Reviews in Toxicology.* 1983, **11** : 121-167.

BOTH K, HENDERSON DW, TURNER DR. Asbestos and erionite fibres can induce mutations in human lymphocytes that result in loss of heterozygosity. *Int J Cancer.* 1994, **59** : 538-542.

BOTH K, TURNER DR, HENDERSON DW. Loss of heterozygosity in asbestos-induced mutations in a human mesothelioma cell line. *Environ Molecular Mutagenesis.* 1995, **26** : 67-71.

BOUTIN C, DUMORTIER P, REY F, VIALLAT JR, DEVUYST P. Black spots concentrate oncogenic asbestos fibers in the parietal pleura : thoracoscopic and mineralogic study. *Am J Respir Crit Care Med.* 1996, **153** : 444-449.

BROWN GM, COWIE H, DAVIS JMG, DONALDSON K. *In vitro* assays for detecting carcinogenic mineral fibers : a comparison of two assays and the role of the fiber size. *Carcinogenesis.* 1986, **7** : 1971-1974.

BROWN RC, CHAMBERLAIN M, GRIFFITHS DM, TIMBRELL V. The effect of fiber size on the *in vitro* biological activity of three types of amphiboles asbestos. *Int J Cancer.* 1978, **22** : 721-727.

CHAMBERLAIN M. The influence of mineral dusts on metabolic co-operation between mammalian cells in tissue culture. *Carcinogenesis.* 1982, **3** : 337-339.

CHAMBERLAIN M, TARMY EM. Asbestos and glass fibres in bacterial mutation tests. *Mutat Res.* 1977, **43** : 159-164.

CHENG JQ, JHANWAR SC, KLEIN WM, BELL DW, LEE W C, ALTOMARE DA, NOBORI T, OLOPADE OI, BUCKLER AJ, TESTA JR. p16 alterations and deletion mapping of 9p21-p22 in malignant mesothelioma. *Cancer Res.* 1994, **54** : 5547-5551.

CHURG A. Deposition and clearance of chrysotile asbestos. *Ann Occup Hyg.* 1994, **38** : 625-633.

CHURG A, WRIGHT JL, DEPAOLI L. Rapid short-term clearance of chrysotile compared with amosite asbestos in the guinea pig. *Am Rev Respir Dis.* 1989, **139** : 885-890.

CLEVELAND MG. Mutagenesis of *Escherichia Coli* (CSH50) by asbestos (41954). *Proc Soc Exptl Biol Med.* 1984, **177** : 343-346.

COLE RW, AULT JG, HAYDEN JH, RIEDER CL. Crocidolite Asbestos Fibers Undergo Size-Dependent Microtubule-Mediated Transport After Endocytosis in Vertebrate Lung Epithelial Cells. *Cancer Res.* 1991, **51** : 4942-4947.

COOK PM, PALEKAR LD, COFFIN DL. Interpretation of the carcinogenicity of amosite asbestos and ferroactinolite on the basis of retained fiber dose and characteristics in vivo. *Toxicol Letters.* 1982, **13** : 151-158.

DAVIS JMG. The role of clearance and dissolution determining the durability or biopersistence of mineral fibers. *Environ Health Perspect.* 1994, **102** (Suppl 5) : 113-117.

DAVIS JMG, ADDISON J, BOLTON RE, DONALDSON K, JONES AD, SMITH T. The pathogenicity of long versus short fibre samples of amosite asbestos administered to rats by inhalation and intraperitoneal injection. *Br J Exp Path.* 1986, **67** : 415-430.

DAVIS JMG, BECKETT ST, BOLTON RE, DONALDSON K. The effects of intermittent high asbestos exposure (peak dose levels) on the lungs of rats. *Br J Exp Path.* 1980, **61** : 272-280.

DAVIS JMG, BECKETT ST, BOLTON RE, COLLINGS P, MIDDLETON AP. Mass number of fibers in the pathogenesis of asbestos-related lung disease in rats. *Br J Cancer.* 1978, **37** : 673-688.

DAVIS JMG, BOLTON RE, MILLER BG, NIVEN K. Mesothelioma Dose Response Following Intraperitoneal Injection of Mineral Fibres. *Int J Exp Pathol.* 1991, **72** : 263-274.

DAVIS JMG, JONES AD. Comparisons of the pathogenicity of long and short fibres of chrysotile asbestos in rats. *Br J Exp Path.* 1988, **69** : 717-737.

DEMENT JM. Carcinogenicity of chrysotile asbestos : Evidence from cohort studies. *Ann NY Acad Sci.* 1991, **643** : 15-23.

DENIZEAU F, MARION M, CHEVALIERG, COTE M. Inability of chrysotile asbestos fibers to modulate the 2-acetylaminofluorene-induced UDS in primary cultures of hepatocytes. *Mutat Res.* 1985, **155** : 83-90.

DIPAULO JA, DEMARINIS AJ, DONIGER J. Asbestos and Benzo(a)pyrene synergism in the transformation of syrian hamster embryo cells. *Pharmacol.* 1983, **27** : 65-73.

DODSON RF, WILLIAMS MG, CORN CJ, BROLLO A, BIANCHI C. Asbestos content of lung tissue, lymph nodes, and pleural plaques from former shipyard workers. *Am Rev Respir Dis.* 1990, **142** : 843-847.

DONALDSON K, GOLYASNYA N. Cytogenetic and pathogenic effects of long and short amosite asbestos. *J Pathol.* 1995, **177** : 303-307.

DONALDSON K, LI XY, DOGRA S, MILLER BG, BROWN GM. Asbestos-stimulated tumor necrosis factor release from alveolar macrophages depends on fibre length and opsonization. *J Pathol.* 1992, **168** : 243-248.

DONG HY, BUARD A, RENIER A, LEVY F, SAINT-ETIENNE L, JAURAND MC. Role of oxygen derivatives in the cytotoxicity and DNA damage produced by asbestos on rat pleural mesothelial cells *in vivo*. *Carcinogenesis.* 1994, **15** : 1251-1255.

DONG HY, BUARD A, LEVY F, RENIER A, LAVAL F, JAURAND MC. Synthesis of poly(ADP-ribose) in asbestos treated rat pleural mesothelial cells in culture. *Mutation Res.* 1995, **331** : 197-204.

DOPP E, SAEDLER J, STOPPER H, WEISS DG, SCHIFFMANN D. Mitotic disturbances and micronucleus induction in syrian hamster embryo fibroblast cells caused by asbestos fibers. *Environ Health Perspect.* 1995, **103** : 268-271.

EVERITT JI. Mechanisms of fiber-induced diseases : implications for the safety evaluation of synthetic vitreous fibers. *Regul Toxicol Pharmacol.* 1994, **20** : S68-S75.

FAUX SP, HOWDEN PJ, LEVY LS. Iron-dependent formation of 8-hydroxydeoxyguanosine in isolated DNA and mutagenicity in *Salmonella typhimurium* TA102 induced by crocidolite. *Carcinogenesis.* 1994, **15** : 1749-1751.

FERON VJ, SCHERRENBURG PM, IMMEL HR, SPIT BJ. Pulmonary response of hamsters to fibrous glass : chronic effects of repeated intratracheal instillation with or without benzo[a]pyrene. *Carcinogenesis.* 1985, **6** : 1495-1499.

FLOYD RA. The role of 8-hydroxyguanine in carcinogenesis. *Carcinogenesis.* 1990, **11** : 1447-1450.

GARCIA JGN, GRAY LD, DODSON RF, CALLAHAN KS. Asbestos-induced endothelial cell activation and injury. *Am Rev Respir Dis.* 1988, **138** : 958-964.

GELZLEICHTER TR, BERMUDEZ E, MANGUM JB, WONG BA, EVERITT JI, MOSS OR. Pulmonary and pleural responses in fischer 344 rats following short-term inhalation of a synthetic vitreous fiber. 1. Quantitation of lung and pleural fiber burdens. *Fundam Appl Toxicol.* 1996, **30** : 31-38.

GERMAIN D. Minéraux accessoires des asbestes-standards de l'Union Internationale Contre le Cancer. *Thèse de l'Université Libre de Bruxelles.* 1974, Faculté des Sciences (Service de Minéralogie - Pétrologie).

GHIO AJ, ZHANG J, PIANTADOSI CA. Generation of hydroxyl radical by crocidolite asbestos is proportional to surface $[Fe^{3+}]$. *Arch Biochem Biophys.* 1992, **298** : 646-650.

GOODGLICK LA, KANE AB. Cytotoxicity of long and short crocidolite asbestos fibers *in vitro* and *in vivo*. *Cancer Res.* 1990, **50** : 5153-5163.

GOODGLICK LA, PIETRAS LA, KANE AB. Evaluation of the causal relationship between crocidolite asbestos-induced lipid peroxidation and toxicity to macrophages. *Am Rev Respir Dis.* 1989, **139** : 1265-1273.

GULUMIAN M, VAN WYK JA. Hydroxyl radical production in the presence of fibres by a Fenton-type reaction. *Chem-Biol Interact.* 1987, **62** : 89-97.

HAGEMEIJER A, VERSNEL MA, VAN DRUNEN E, MORET M, BOUTS MJ, VAN DER KWAST TH, HOOGSTEDEN HC. Cytogenetic analysis of malignant mesothelioma. *Cancer Genet Cytogenet.* 1990, **47** : 1-28.

HANSEN K, MOSSMAN BT. Generation of superoxide (O₂) from alveolar macrophages exposed to asbestiform and nonfibrous particles. *Cancer Res.* 1987, **47** : 1681-1686.

HART GA, KATHMAN LM, HESTERBERG TW. In vitro cytotoxicity of asbestos and man-made vitreous fibers : Roles of fiber length, diameter and composition. *Carcinogenesis.* 1994, **15** : 971-977.

HEI TK, HALL EJ, OSMAK RS. Asbestos, radiation and oncogenic transformation. *Br J Cancer.* 1984, **50** : 717-720.

HEI TK, HE ZY, SUZUKI K. Effects of antioxidants on fiber mutagenesis. *Carcinogenesis.* 1995, **16** : 1573-1578.

HEI TK, PIAO CQ, HE ZY, VANNAIS D, WALDREN CA. Chrysotile fiber is a strong mutagen in mammalian cells. *Cancer Res.* 1992, **52** : 6305-6309.

HESTERBERG TW, BARRETT JC. Dependence of asbestos- and mineral dust-induced transformation of mammalian cells in culture on fiber dimension. *Cancer Res.* 1984, **44** : 2170-2180.

HESTERBERG TW, BARRETT JC. Induction by asbestos fibers of anaphase abnormalities : mechanism for aneuploidy induction and possibly carcinogenesis. *Carcinogenesis.* 1985, **6** : 473-475.

HESTERBERG TW, MAST R, MCCONNELL EE, CHEVALIER J, BERNSTEIN DM, BUNN WB, ANDERSON R. Chronic inhalation toxicity of refractory ceramic fibers in syrian hamsters. In : *Mechanisms in Fiber carcinogenesis*, RC Brown, JA Hoskins and NF Johnson (Eds). 1991, 53538 (Nato ASI series, Series A, Life Sciences, 233)

HESTERBERG TW, MILLER WC, MCCONNELL EE, CHEVALIER J, HADLEY JG, BERNSTEIN DM, THEVENAZ P, ANDERSON R. Chronic inhalation toxicity of size-separated glass fibers in Fischer-344 rats. *Fundam Appl Toxicol.* 1993, **20** : 464-476. ISSN : 0272-0590.

HESTERBERG TW, RIRIE DG, BARRETT JC, NETTESHEIM P. Mechanisms of cytotoxicity of asbestos fibres in rat tracheal epithelial cells in culture. *Toxicol In Vitro.* 1987, **1** : 59-65.

HILL IM, BESWICK PH, DONALDSON K. Differential release of superoxide anions by macrophages treated with long and short fibre amosite asbestos is a consequence of differential affinity for opsonin. *Occup Environ Med.* 1995, **52** : 92-96.

HIRVONEN A, PELIN K, TAMMILEHTO L, KARJALAINEN A, MATTSON K, LINNAINMAA K. Inherited GSTM1 and NAT2 defects as concurrent risk modifiers in asbestos-related human malignant mesothelioma. *Cancer Res.* 1995, **55** : 2981-2983.

HOLMES A, MORGAN A. Clearance of anthophyllite fibers from the rat lung and the formation of asbestos bodies. *Environ Res.* 1980, **22** : 13-21.

HUANG SL. Amosite, chrysotile and crocidolite asbestos are mutagenic in chinese hamster lung cells. *Mutat Res.* 1979, **68** : 265-274.

HUANG SL, SAGGIORO D, MICHELMANN H, MALLING HV. Genetic effects of crocidolite asbestos in Chinese hamster lung cells. *Mutat Res.* 1978, **57** : 225-232.

IMLAY JA, LINN S. DNA damage and oxygen radical toxicity. *Science.* 1988, **240** : 1302-1309.

International Agency for Research on Cancer. Evaluation of Carcinogenic risk of chemicals to man. *IARC monographs.* 1977, **14**.

ISHIZAKI T, YANO E, URANO N, EVANS PH. Crocidolite-induced reactive oxygen metabolites generation from human polymorphonuclear leukocytes. *Environ Res.* 1994, **66** : 208-216.

JANSSEN YMW, HEINTZ NH, MARSH J P, BORM PJA, MOSSMAN BT. Induction of *c-fos* and *c-jun* proto-oncogenes in target cells of the lung and pleura by carcinogenic fibers. *Am J Respir Cell Mol Biol.* 1994, **11** : 522-530.

JAU RAND MC. Mechanisms of fibre genotoxicity. In : *Mechanisms in Fibre Carcinogenesis*, NATO Advanced Workshop. R.C. Brown, J. A. Hoskins and N.F Johnson (Eds), 1991, Plenum Press, New York and London, pp287-307. (NATO ASI Series, Series A. Life Sciences, v. Vol. 223).

JAU RAND MC. Observations on the carcinogenicity of asbestos fibers. *N Y Acad Sci.*, **643** : 258-270.

JAU RAND MC, BASTIE-SIGEAC I, BIGNON J, STOE BNER P. Effect of chrysotile and crocidolite on the morphology and growth of rat pleural mesothelial cells. *Environ Res.* 1983, **30** : 255-269.

JAU RAND MC, FLEURY J, MONCHAUX G, NEBUT M, BIGNON J. Pleural carcinogenic potency of mineral fibers (Asbestos, attapulgitite) and their cytotoxicity on cultured cells. *J Natl Cancer Inst.* 1987, **79** : 797-804.

JAU RAND MC, KHEUANG L, MAGNE L, BIGNON J. Chromosomal changes induced by chrysotile fibres or benzo(3-4)pyrene in rat pleural mesothelial cells. *Mutat Res.* 1986, **169** : 141-148.

KAMP DW, DUNNE M, WEITZMAN SA, DUNN MM. The interaction of asbestos and neutrophils injures cultured human pulmonary epithelial cells : role of hydrogen peroxide. *J Lab Clin Med.* 1989, **114** : 604-612.

KAMP DW, GRACEFFA P, PRYOR WA, WEITZMAN SA. The role of free radicals in asbestos-induced diseases. *Free Rad Biol Med.* 1992, **12** : 293-315.

KASAI H, NISHIMURA S. DNA damage induced by asbestos in the presence of hydrogen peroxide. *Gann*. 1984, **75** : 841-844

KELSEY KT, YANO E, LIBER HL, LITTLE JB. The in vitro genetic effects of fibrous erionite and crocidolite asbestos. *Br J Cancer*. 1986, **54** : 107-114.

KENNE K, LJUNGQUIST S, RINGERTZ NR. Effects of asbestos fibers on cell division, cell survival, and formation of thioguanine-resistant mutants in Chinese hamster ovary cells. *Environ Res*. 1986, **39** : 448-464.

KIMIZUKA G, WANG NS, HAYASHI Y. Physical and microchemical alterations of chrysotile and amosite asbestos in the hamster lung. *J Toxicol Environ Health*. 1987, **21** : 251-261.

KINNULA VL, AALTO K, RAIVO KO, WALLE S, LINNAINMAA K. Cytotoxicity of oxidants and asbestos fibers in cultured human mesothelial cells. *Free Rad Biol Med*. 1994, **16** : 169-176.

KODAMA Y, BOREIKO CJ, MANESS SC, HESTERBERG TW. Cytotoxic and cytogenetic effects of asbestos on human bronchial epithelial cells in culture. *Carcinogenesis*. 1993, **14** : 691-697.

KRATZKE RA, OTTERSON GA, LINCOLN CE, EWING S, OIE H, GERADTS J, KAYE FJ. Immunohistochemical analysis of the p16(INK4) cyclin-dependent kinase inhibitor in malignant mesothelioma. *J Natl Cancer Inst*. 1995, **87** : 1870-1875.

LANGERAK AW, WILLIAMSON KA, MIYAGAWA K, HAGEMEIJER A, VERSNEL MA, HASTIE ND. Expression of the Wilms' tumor gene WT1 in human malignant mesothelioma cell lines and relationship to platelet-derived growth factor a and insulin-like growth factor 2 expression. *Genes Chromosomes Cancer*. 1995, **12** : 87-96.

LAVAPPA KS, FU MM, EPSTEIN SS. Cytogenetic studies on chrysotile asbestos. *Environ Res*. 1975, **10** : 165-173.

LE BOUFFANT L, DANIEL H, HENIN JP, MARTIN JC, NORMAND C, TICHOUX G, TROLARD F. Experimental study on long-term effects of inhaled MMMF on the lungs of rats. *Ann Occup Hyg*. 1987, **31**(4B) : 765-790.

LE BOUFFANT L, HENIN JP, MARTIN JC, NORMAND C, TICHOUX G, TROLARD F. Distribution of inhaled MMMF in the rat lung - long-term effects. *Effects of Man-made Mineral Fibres*. : World Health Organization, 1984, **2** : 143-167.

LEANDERSON P, SÖDERKVIST P, TAGESSON C, AXELSON O. Formation of 8-hydroxydeoxyguanosine by asbestos and man made mineral fibers. *Br J Ind Med*. 1988, **45** : 309-311.

LECHNER JF, TOKIWA T, LAVECK M, BENEDICT WF, BANKS-SCHLEGEL S, YEAGER H, BARNERJEE A, HARRIS CC. Asbestos-associated chromosomal changes in human mesothelial cells. *Proc Natl Acad Sci, USA*. 1985, **82** : 3884-3888.

LEE KP, BARRASCE GRIFFITH FD, WARITZ RS, LAPIN CA. Comparative pulmonary responses to inhaled inorganic fibers with asbestos and fiberglass. *Environ Res.* 1981, **24** : 167-191.

LIBBUS BL, CRAIGHEAD JE. Chromosomal translocations with specific break-points in asbestos-induced rat mesotheliomas. *Cancer Res.* 1988, **48** : 6455-6461.

LIBBUS BL, ILLENYE SA, CRAIGHEAD JE. Induction of DNA strand breaks in cultured rat embryo cells by crocidolite asbestos as assessed by nick translation. *Cancer Res.* 1989, **49** : 5713-5718.

LU J, KEANE MJ, ONG T, WALLACE WE. In vitro genotoxicity studies of chrysotile asbestos fibers dispersed in simulated pulmonary surfactant. *Mutat Res.* 1994, **320** : 253-259.

LU YP, LASNE C, LOWY R, CHOUROULINKOV I. Use of the orthogonal design method to study the synergistic effects of asbestos fibres and 12-O-tetradecanoylphorbol-13-acetate (TPA^o) in the BALB/3T3 cell transformation system. *Mutagenesis.* 1988, **3** : 355-362.

MAHMOOD N, KHAN SG, ATHAR M, RAHMAN Q. Differential role of hydrogen peroxide and organic peroxides augmenting asbestos-mediated DNA Damage - Implications for asbestos induced carcinogenesis. *Biochem Biophys Res Comm.* 1994, **200** : 687-694.

MAPLES KR, JOHNSON NF. Fiber-induced hydroxyl radical formation - Correlation with mesothelioma induction in rats and humans. *Carcinogenesis.* 1992, **13** : 2035-2039.

MARSH JP, MOSSMAN BT. Role of asbestos and active oxygen species in activation and expression of ornithine decarboxylase in Hamster tracheal epithelial cells. *Cancer Res.* 1991, **51** : 167-173.

MAST RW, MCCONNELL EE, HESTERBERG TW, CHEVALIER J, KOTIN P, THEVENAZ P, BERNSTEIN, GLASS LR, MILLER W, ANDERSON R. Multiple-dose chronic inhalation toxicity study of size-separated kaolin refractory ceramic fiber in male Fisher 344 rats. *Inhalation Toxicol.* 1995, **7** : 469-502.

MCCONNELL EE, KAMSTRUP O, MUSSELMAN R, HESTERBERG TW, CHEVALIER J, MILLER WC, THEVENAZ P. Chronic inhalation study of size-separated rock and slag wool insulation fibers in Fischer 344/N rats. *Inhal Toxicol.* 1994, **6** : 571-614.

METCALF RA, WELSH JA, BENNETT WP, SEDDON MB, LEHMAN TA, PELIN K, LINNAINMAA K, TAMMILEHTO L, MATTSON K, GERWIN BI, HARRIS CC : p53 and Kirsten-ras mutations in human mesothelioma cell lines. *Cancer Res.* 1992, **52** : 2610-2615.

MIKALSEN SO, RIVEDAL E, SANNER T. Morphological transformation of Syrian hamster embryo cells induced by mineral fibres and the alleged enhancement of benzo[*a*]pyrene. *Carcinogenesis.* 1988, **9** : 891-899.

MOHR U, POTT F, VONNAHME EJ. Morphological aspects of mesotheliomas after intratracheal instillations of fibrous dusts in Syrian golden hamsters. *Exp Path.* 1984, **26** : 179-183.

MONCHAUX G, BIGNON J, JAURAND MC, LAFUMA J, SEBASTIEN P, MASSE R, HIRSCH A, GONI J. Mesotheliomas in rats following inoculation with acid-leached chrysotile asbestos and other mineral fibres. *Carcinogenesis.* 1981, **2** : 229-236.

MORGAN A. *In vivo* evaluation of chemical biopersistence of man-made mineral fibers. *Environ Health Perspec.* 1994, **102**(Suppl 5) : 127-131.

MORGAN I, EVANS JC, EVANS RJ, HOUNAM RF, HOLMES A, DOYLE SG. Studies on the deposition of inhaled fibrous material in the respiratory tract of the rat and its subsequent clearance using radioactive tracer techniques. II. Deposition of the UICC standard reference samples of asbestos. *Environ Res.* 1975, **10** : 196-207.

MOSSMAN BT, CRAIGHEAD JE. Mechanisms of asbestos carcinogenesis. *Environ Res.* 1981, **25** : 269-280.

MOSSMAN BT, LIGHT W, WEI E. Asbestos : mechanisms of toxicity and carcinogenicity in the respiratory tract. *Ann Rev Pharmacol Toxicol.* 1983, **23** : 595-615.

MOSSMAN BT, MARSH JP, SHATOS MA. Alteration of superoxide dismutase activity in tracheal epithelial cells by asbestos and inhibition of cytotoxicity by antioxidants. *Lab Invest.* 1986, **54** : 204-212.

MOYER VD, CISTULLI CA, VASLET CA, KANE AB. Oxygen radicals and asbestos carcinogenesis. *Environ Health Perspect.* 1994, **102**(Suppl. 10) : 131-136.

MUHLE H, BELLMANN B, POTT F. Comparative investigations of the biodurability of mineral fibers in the rat lung. *Environ Health Perspect.* 1994, **102**(Suppl 5) : 163-138.

MUHLE H, POTT F, BELLMANN B, TAKENAKA S, ZIEM U. Inhalation and injection experiments in rats to test the carcinogenicity of MMMF. *Ann Occup Hyg.* 1987, **31**(4B) : 755-764.

NISHIZUKA Y. The role of protein kinase C in cell surface signal transduction and tumour promotion. *Nature.* 1984, **308** : 693-698.

OBERDÖRSTER G, FERIN J, LEHNETR BE. Correlation between particle size, *in vivo* particle persistence, and lung injury. *Environ Health Perspect.* 1994, **102**(Suppl 5) : 173-179.

OBERDÖRSTER G, MORROW PE, SPURNY K. Size dependent lymphatic short term clearance of amosite fibers in the lung. *Ann Occup Hyg.* 1988, **32**(Suppl 1) : 149-156.

OEHLERT G W. A reanalysis of the Stanton *et al.* pleural sarcoma data. *Environ Res.* 1991, **54** : 194-205.

OKAMOTO A, DEMETRICK DJ, SPILLARE EA, HAGIWARA K, HUSSAIN SP, BENNETT WP, FORRESTER K, GERWIN B, SERRANO M, BEACH DH, HARRIS CC. Mutations and altered expression of p16^{INK4} in human cancer. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1994, **91** : 11045-11049.

OLOFSSON K, MARK J. Specificity of asbestos-induced chromosomal aberrations in short-term cultures human mesothelial cells. *Cancer Genet Cytogenet*. 1989, **41** : 33-39.

OSHIMURA M, HESTERBERG TM, TSUTSUI T, BARRETT JC. Correlation of asbestos-induced cytogenetic effects with cell transformation of Syrian embryo cells in culture. *Cancer Res*. 1984, **44** : 5017-5022.

PALEKAR LD, EYRE JF, MOST BM, COFFIN DL. Metaphase and anaphase analysis of V79 cells exposed to erionite, UICC chrysotile and UICC crocidolite. *Carcinogenesis*. 1987, **8** : 553-560.

PARK S, SCHALLING M, BERNARD A, MAHESWARAN S, SHIPLEY GC, ROBERTS D, FLETCHER J, SHIPMAN R, RHEINWALD J, DEMETRI G, GRIFFIN J, MINDEN M, HOUSMAN DE, HABER DA. The Wilms tumour gene WT1 is expressed in murine mesoderm-derived tissues and mutated in a human mesothelioma. *Nature Genetics*. 1993, **4** : 415-420.

PATEROUR MJ, BIGNON J, JAURAND MC. *In vitro* transformation of rat pleural mesothelial cells by chrysotile and/or benzo[a]pyrene. *Carcinogenesis*. 1985, **6** : 523-529.

PELIN K, HIRVONEN A, TAAVITSAINEN M, LINANAINMAA K. Cytogenetic response to asbestos fibers in cultured human primary mesothelial cells from 10 different donors. *Mutat Res*. **334** : 225-233.

PELIN K, HUSGAFVELPURSIAINEN K, VALLAS M, VANHALA E, LINNAINMAA K. Cytotoxicity and anaphase aberrations induced by mineral fibres in cultured human mesothelial cells. *Toxicol in Vitro*. 1992, **6** : 445-450.

PELIN K, KIVIPENSAS P, LINNAINMAA K. Effects of asbestos and man-made vitreous fibers on cell division in cultured human mesothelial cells in comparison to rodent cells. *Environ Mol Mut.*, **25** : 118-125.

PERDERISET M, MARSH JP, MOSSMAN BT. Activation of protein kinase-C by crocidolite asbestos in hamster tracheal epithelial cells. *Carcinogenesis*. 1991, **12** : 1499-1502.

PEZERAT H. The surface activity of mineral dusts and the process of oxidative stress. In *Mechanisms in Fibre Carcinogenesis*.,. R.C. Brown, J. A. Hoskins and N.F Johnson (Eds), Plenum Press, New York and London, pp387-395. (NATO ASI Series, Series A. Life Sciences, v. Vol. 223).

POTT F, ROLLER M, KAMINO K, BELLMANN B. Significance of durability of mineral fibers for their toxicity and carcinogenic potency in the abdominal cavity of rats in comparison with the low sensitivity of inhalation studies. *Environ Health Perspect*. 1994, **102**(Suppl 5) : 145-150.

PRICE-JONES MJ, GUBBINGS G, CHAMBERLAIN M. The genetic effects of crocidolite asbestos, comparison of chromosome abnormalities and sister chromatid changes. *Mutat Res.* 1980, **79** : 331-336.

REISS B, SOLOMON S, TONG C, LEVENSTEIN M, ROSENBERG SH, WILLIAMS GM. Absence of mutagenic activity of three forms of asbestos in liver epithelial cells. *Environ Res.* 1982, **27** : 389-397.

RENIER A, LEVY F, PILLIERE F, JAURAND MC. Uncheduled DNA synthesis in rat pleural mesothelial cells treated with mineral fibres or benzo[a]pyrene. *Mutat Res.* 1990, **241** : 361-367.

RIEDER CL, SLUDER G, BRINKLEY BR. Some possible routes for asbestos-induced aneuploidy during mitosis in vertebrate cells. In : *Cellular and Molecular Aspects of Fiber Carcinogenesis*. C.C. Harris, J. F. Lechner, B.R. Brinkley (Eds). Cold Spring Harbor Laboratory press, 1991 : pp 1-26. (J. Inglis, J. A. Witkowski : Current Communications in Cell and Molecular Biology, v. 2).

ROGGLI VL, BRODY AR. Changes in numbers and dimensions of chrysotile asbestos fibers in lungs of rats following short-term exposure. *Exptl Lung Res.* 1984, **7** : 133-147.

ROGGLI VL, GEORGE MH, BRODY AR. Clearance and dimensional changes of crocidolite asbestos fibers isolated from lungs of rats following short-term exposure. *Environ Res.* 1987, **42** : 94-105.

SAINT-ETIENNE L, ENDO CAPRON S, JAURAND MC. *In vitro* neoplastic transformation of rat pleural mesothelial cells. *Eur Respir Rev.* 1993, **3** : 141-144.

SARASIN A. Les gènes humains de la réparation de l'ADN. *Médecine/Sciences.* 1994, **10** : 43-54.

SCHAPIRA RM, GHIO AJ, EFFROS RM, MORRISEY J, DAWSON CA, HACKER AD. Hydroxyl radicals are formed in the rat lung after asbestos instillation *in vivo*. *Am J Respir Cell Mol Biol.* 1994, **10** : 573-579.

SEBASTIEN P, JANSON X, GAUDICHET A, HIRSCH A, BIGNON J. Asbestos retention in human respiratory tissues : comparative measurements in lung parenchyma and in patients pleura. J.C. Wagner (Ed) 1980, *Biological Effects of Mineral fibers* - IARC Scientific Publications : 237-246.

SEBASTIEN P, JANSON X, BONNAUD G, RIBA G, MASSE R, BIGNON J. Translocation of asbestos fibers through respiratory tract and gastrointestinal tract according to fiber type and size. In : *Dusts and Disease*. Lemen, Dement (Eds) Pathotox Publish Inc, 1979 : pp65-85.

SEKIDO Y, PASS HI, BADER S, MEW DJY, CHRISTMAS MF, GAZDAR AF. Neurofibromatosis type 2 (NF2) gene is somatically mutated in mesothelioma but not in lung cancer. *Cancer Res.* 1995, **55** : 1227-1231.

SHATOS MA, DOHERTY JM, MARSH JP, MOSSMAN BT. Prevention of asbestos-induced cell death in rat lung fibroblasts and alveolar macrophages by scavengers of active oxygen species. *Environ Res.* 1987, **44** : 103-116.

SHIMIZU E, COXON A, OTTERSON GA, STEINBERG SM, KRATZKE RA, KIM YW, FEDORKO J, OIE H, JOHNSON BE, MULSHINE JL, MINNA JD, GAZDAR AF, KAYE FJ. RB protein status and clinical correlation from 171 cell lines representing lung cancer, extrapulmonary small cell carcinoma, and mesothelioma. *Oncogene*. 1994, **9** : 2441-2448.

SHUBIK P. Progression and promotion. *J Natl Cancer Inst*. 1984, **73** : 1005-1011.

SINCOCK AM, DELHANTY JDA, CASEY GA. Comparison of the cytogenetic response to asbestos and glass fibre in Chinese hamster and human cell lines - Demonstration of growth inhibition in primary human fibroblasts. *Mutat Res*. 1982, **101** : 257-268.

SINCOCK A. Seabright, M. Induction of chromosome changes in Chinese hamster cells by exposure to asbestos fibres. *Nature*. 1975, **257** : 56-58.

SMITH DM, ORTIZ LW, ARCHULETA RF, JOHNSON NF. Long-term health effects in hamsters and rats exposed chronically to man-made vitreous fibres. *Ann Occup Hyg*. 1987, **31**(4B) : 731-754.

SOLOMON E, BORROW J, GOSSARD AD. Chromosome aberrations and cancer. *Science*. 1991, **254** : 1153-1160.

STANTON F, LAYARD M, TEGERIS A, MILLER E, MAY M, KENT E. Tumorigenicity of fibrous glass : Pleural response in the rat in relation to fiber dimension. *J Natl Cancer Inst*. 1977, **58** : 587-603.

STANTON MF, LAYARD M, TEGERIS A, MILLER E, MAY M, MORGAN E, SMITH A. Relation of particle dimension to carcinogenicity in amphibole asbestoses and other fibrous minerals. *J Natl Cancer Inst*. 1981, **67** : 965-975.

TAKEUCHI T, MORIMOTO K. Crocidolite asbestos increased 8-Hydroxydeoxyguanosine levels in cellular DNA of a human promyelocytic leukemia cell line, HL60. *Carcinogenesis*. 1994, **15** : 635-639.

TIAINEN M, TAMMILEHTO L, RAUTONEN J, TUOMI T, MATTSON K, KNUUTILA S. Chromosomal abnormalities and their correlations with asbestos exposure and survival in patients with mesothelioma. *Br J Cancer*. 1989, **60** : 618-626.

TIMBRELL V. Characteristics of the International Union Against Cancer standard reference samples of asbestos. *Proc Intl Conference, Johannesburg, 1969*. 1970, H.A. Shapiro (Ed) Cape and Transvaal Printers :pp 28-36.

TOPPING DC, NETTEISHEIM P. Two-stage carcinogenesis studies with asbestos in Fischer 344 rats. *J Natl Cancer Inst*. 1980, **65** : 627-630.

TURVER CJ, BROWN RC. The role of catalytic iron in asbestos induced lipid peroxidation and DNA strand breakage in C3H10T1/2 cells. *Br J Cancer*. 1987, **56** : 133-136.

VALERIO F, DE FERRARI M, OTTAGGIO L, REPETTO E, SANTI L. Chromosomal aberrations induced by chrysotile and crocidolite in human lymphocytes in vitro. *Mutat Res*. 1983, **122** : 397-402.

- VALLYATHAN V, MEGA J F, SHI XL, DALAL NS. Enhanced generation of free radicals from phagocytes induced by mineral dusts. *Am J Respir Cell Mol Biol.* 1992, **6** : 404-413.
- VIALLAT JR, RAYBAUD F, PASSAREL M, BOUTIN C. Pleural migration of chrysotile fibers after intratracheal injection in rats. *Arch Environ Health.* 1986, **41** : 282-286.
- VOYTEK P, ANVER M, THORSLUND T, CONLEY J, ANDERSON E. Mechanisms of asbestos carcinogenesis. *J Am Coll Toxicol.* 1990, **9** : 541-550.
- VUILLAUME M. Reduced oxygen species, mutation, induction and cancer initiation. *Mutat Res.* 1987, **186** : 43-72.
- WAGNER C, BERRY G, SKIDMORE JW, TIMBRELL V. The effects of the inhalation of asbestos in rats. *Br J Cancer.* 1974, **29** : 252-269.
- WAGNER JC, BERRY G, TIMBRELL V. Mesothelioma in rats after inoculation with asbestos and other materials. *Br J Cancer.* 1973, **28** : 173-185.
- WALKER C, EVERITT J, BARRETT JC. Possible cellular and molecular mechanisms for asbestos carcinogenicity. *Am J Ind Med.* 1992, **21** : 253-273.
- WANG NS, JAURAND MC, MAGNE L, KHEUANG L, PINCHON MC, BIGNON J. The interactions between asbestos fibers and metaphase chromosomes of rat pleural mesothelial cells in culture. A scanning and transmission electron microscopic study. *Am J Pathol.* 1987, **126** : 343-349.
- WARHEIT DB, HARTSKY MA, MCHUGH TA, KELLAR KA. Biopersistence of inhaled organic and inorganic fibers in the lungs of rats. *Environ Health Perspect.* 1994, **102**(Suppl 5) : 151-157.
- WARREN S, BROWN CE, CHUTE RN, FEDERMAN M. Mesothelioma relative to asbestos, radiation and methylcholanthrene. *Arch Pathol Lab Med.* 1981, **105** : 305-312.
- WEITZMAN SA, GRACEFFA P. Asbestos catalyzes hydroxyl and superoxy radical generation from hydrogen peroxide. *Arch Biochem Biophys.* 1984, **228** : 373-376.
- XIAO S, LI DZ, VIJG J, SUGARBAKER DJ, CORSON JM, FLETCHER JA. Codeletion of p15 and p16 in primary malignant mesothelioma. *Oncogene.* 1995, **11** : 511-515.
- YEGLES M, JANSON X, DONG HY, RENIER A, JAURAND MC. Role of fibre characteristics on cytotoxicity and induction of anaphase/telophase aberrations in rat pleural mesothelial cells *in vitro*. Correlations with *in vivo* animal findings. *Carcinogenesis.* 1995, **16** : 2751-2758.
- YEGLES M, SAINT-ETIENNE L, RENIER A, JANSON X, JAURAND MC. Induction of metaphase and anaphase/telophase abnormalities by asbestos fibers in rat pleural mesothelial cells *in vitro*. *Am J Respir Cell Mol Biol.* 1993, **9** : 186-191.
- ZALMA R, BONNEAU L, JAURAND MC, GUIGNARD J, PEZERAT H. Formation of oxy-radicals by oxygen reduction arising from the surface activity of asbestos. *Can J Chem.* 1987, **65** : 2338-2341.

7 LES RISQUES ASSOCIÉS AUX PRINCIPALES CIRCONSTANCES D'EXPOSITION À L'AMIANTE	120
1. Expositions professionnelles	121
2. Expositions para-professionnelles et domestiques	123
3. Exposition environnementale « naturelle » d'origine géologique	124
3.1. Turquie	124
3.2. Grèce	126
3.3. Chypre	127
3.4. Corse	128
3.5. Nouvelle-Calédonie	128
3.6. Synthèse des études épidémiologiques concernant les expositions environnementales d'origine naturelle (géologique)	129
4. Expositions environnementales d'origine industrielle	130
4.1. Considérations méthodologiques	130
4.2. Principales données épidémiologiques	132
4.3. Synthèse des études épidémiologiques concernant les expositions environnementales d'origine industrielle	140
5. Expositions dans les bâtiments contenant de l'amiante et dans l'environnement urbain	140
5.1. Considérations méthodologiques	140
5.2. Principales données épidémiologiques	141
5.3. Synthèse des études épidémiologiques concernant les expositions environnementales passives intra-murales et urbaines	145
Références bibliographiques	146