

95  
Siège social, abonnements  
et correspondance :  
4, rue Pérignon 75007 PARIS

**ENVIRONNEMENT**

**ET**

**NOUVELLE  
MEDECINE**

**N° 2** 1982

# **ONCOTEST :**

**Dépistage des potentiels cancérogènes  
et spécifiquement anti-cancéreux  
Conceptions et perspectives nouvelles  
en cancérologie**

Mirko BELJANSKI \*

# ONCOTEST :

## Dépistage des potentiels cancérogènes et spécifiquement anti-cancéreux Conceptions et perspectives nouvelles en cancérologie

Mirko BELJANSKI \*

L'A.D.N., constituant essentiel des chromosomes dont l'intégrité est déterminante pour la survie et la pérenité du patrimoine héréditaire de la cellule, est la cible privilégiée de très nombreuses substances naturelles ou chimiques. En se fixant à l'A.D.N. ou en s'intercallant entre les brins de la double chaîne, ces substances perturbent les systèmes biologiques chargés de sa réplication : c'est le but de la chimiothérapie. Mais ces agents ne font pas la distinction entre un A.D.N. provenant d'une cellule saine ou un A.D.N. provenant d'une cellule cancéreuse : ils se fixent aux A.D.N., particulièrement lorsque ceux-ci appartiennent à des cellules en division rapide, c'est-à-dire principalement aux A.D.N. des cellules cancéreuses ou aux A.D.N. des cellules hématopoïétiques. D'où des toxicités dramatiques, des appauvrissements hématopoïétiques très graves, des altérations chromosomiques. Les rayons ont les mêmes inconvénients lorsqu'utilisés à de très fortes doses.

La pratique d'une thérapie basée sur le principe d'une haute toxicité provient de la conception qu'aucune différence notable ne distingue l'A.D.N. des cellules saines de l'A.D.N. des cellules cancéreuses. Or, nombre de scientifiques estiment que l'apparition des cancers est le fruit d'une mutation (1) (2) bien que l'on ait cherché — et semble-t-il en vain — des différences séquentielles au niveau des nucléotides constituant ces deux types d'A.D.N. ou au niveau de leurs A.R.N. messagers, différences portant la marque de la mutation (3) (4). Cependant, on savait depuis fort longtemps que l'apparition d'une cellule cancéreuse n'est pas instantanée (5), que des substances non mutagènes (stéroïdes, ethionine, actinomycine, bléomycine, etc.) (6) peuvent induire le cancer (7) (8) (9) (10)

et qu'une action persistante, voire cumulative était nécessaire (5) (7). Mais le cancérogène, à certaines doses, stimule de façon immédiate la multiplication des cellules déjà cancéreuses (11). Il ne semble du reste guère logique que des cancérogènes aux structures si diverses (cancérogènes polycycliques, cyclophosphamide, linéaires) induisent tous une même mutation ( $His^- \rightarrow His^+$ ) dans le test de mutagenèse le plus couramment employé (1). Les tests dont il existe plusieurs variantes sont tous basés sur le potentiel mutagène. Le seul effet mutagène des cancérogènes a été retenu pour expliquer le "bascul" d'une cellule saine en cellule cancéreuse bien que 20 % des cancérogènes ne soient pas mutagènes (1).

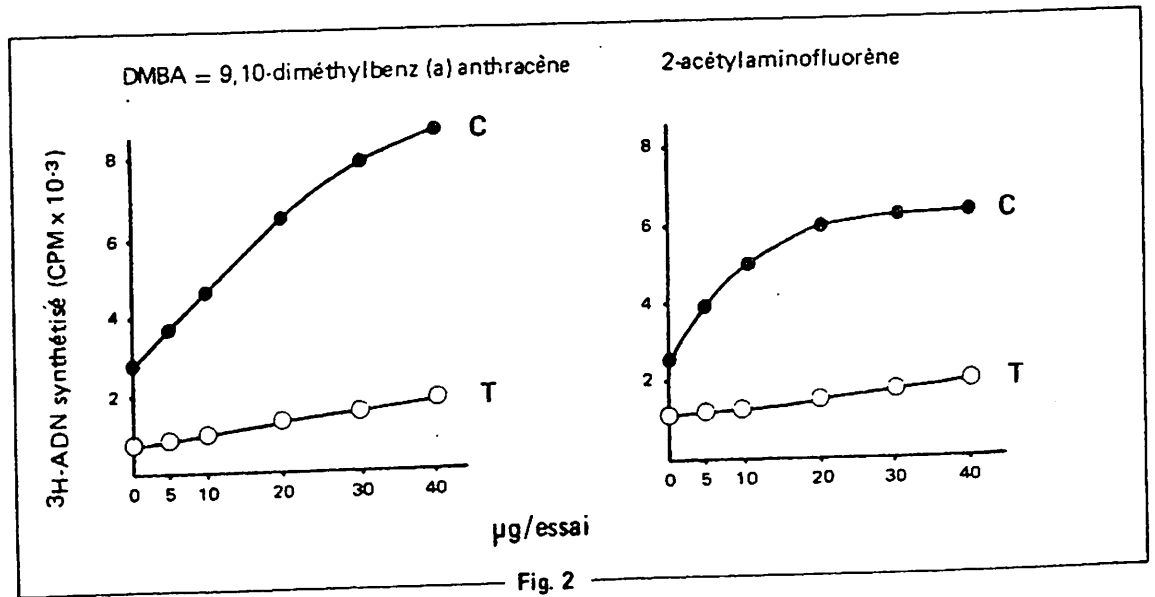
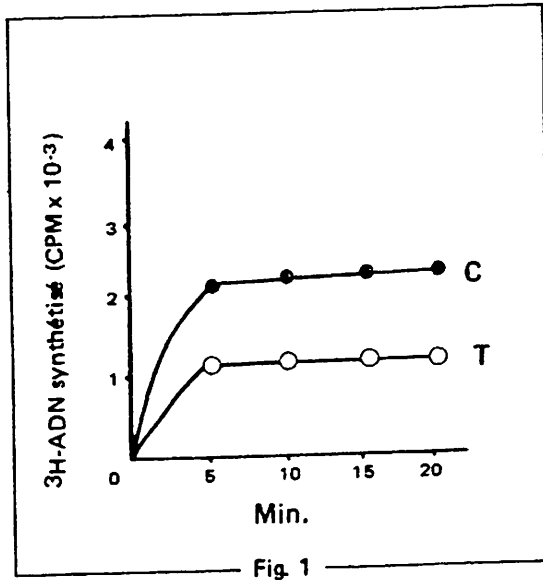
Le bouleversement de la régulation d'une cellule cancéreuse, comme sa grande vitesse de prolifération par rapport à la cellule normale homologue, indiquaient un état physico-chimique différent au niveau des gènes et de leur principal composant, l'A.D.N. On sait, en effet, que pour se répliquer, la double chaîne de l'A.D.N. doit s'ouvrir afin de permettre l'accès à l'enzyme de polymérisation (A.D.N. polymérase A.D.N. dépendante) qui se fixe sur les sites d'initiation (12) (13). La libération des informations spécifiques exige aussi l'ouverture locale de l'A.D.N. pour l'A.R.N. polymérase. Une cellule en division rapide doit donc posséder une certaine «destabilisation» au niveau des liaisons hydrogènes des chaînes d'A.D.N. Une cellule cancéreuse, cellule en division rapide, devrait donc posséder un A.D.N. «destabilisé» par rapport à l'A.D.N. sain bien régulé.

Pour contrôler l'ensemble de cette conception, nous nous sommes intéressés à...

Sur l'A.D.N. matrice, modèle que l'on introduit dans le milieu expérimental (A.D.N.-matrice isolé de cellules saines ou A.D.N.-matrice isolé de cellules cancéreuses de tissus homologues), l'enzyme, en présence des composés nécessaires à la synthèse, dont quatre désoxyribonucléotides (l'un étant radioactif), synthétise un polydéoxyribonucléotide radioactif acido-précipitable, c'est-à-dire un nouvel A.D.N., copie du modèle fourni (pour conditions d'incubation, voir (11) et (15)).

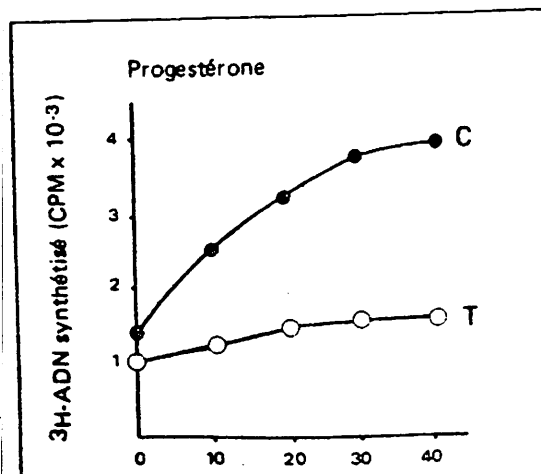
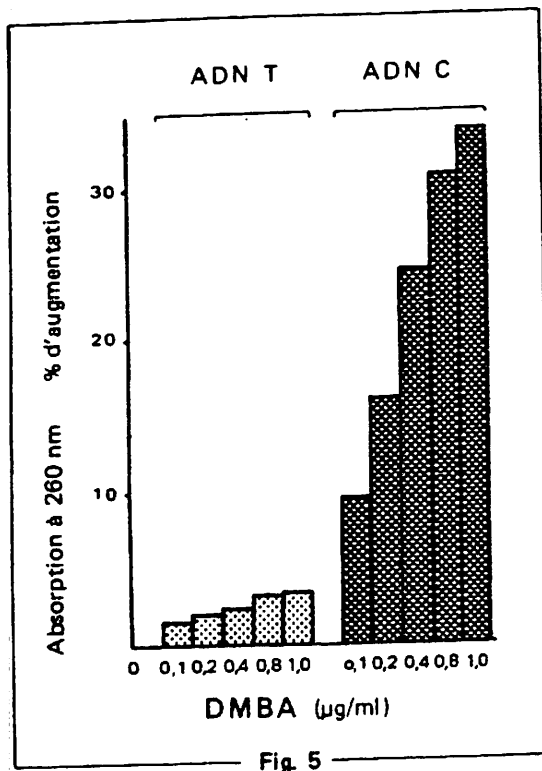
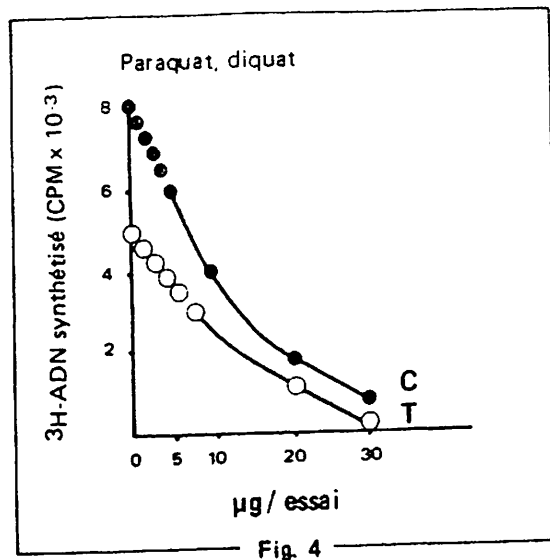
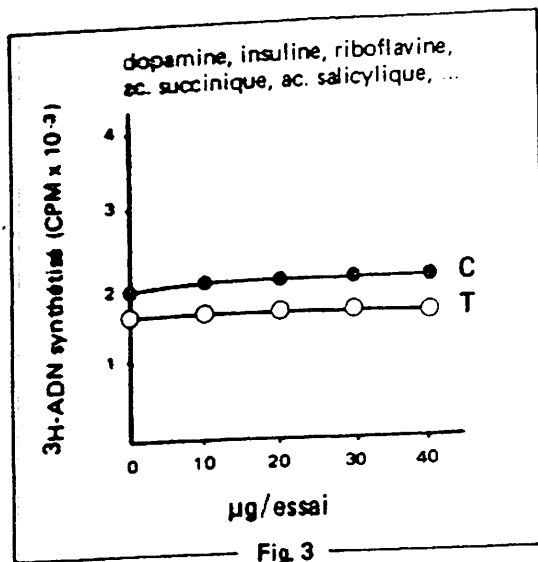
La première observation dont rend compte la figure 1, indique que l'A.D.N. d'origine cancéreuse est meilleure matrice que l'A.D.N. sain. Ceci s'est vérifié sur tous les A.D.N. utilisés, d'origines très variées, soit une quinzaine. Ce fait suggère, comme nous venons de l'expliquer, une destabilisation des A.D.N. provenant des tissus cancéreux.

La seconde observation est que les cancérogènes connus, utilisés à des concentrations relativement faibles, stimulent très fortement la synthèse des A.D.N. cancéreux, fort peu celle des A.D.N. normaux (figure 2). Ceci s'est avéré vrai pour plus de vingt cancérogènes connus. La fiabilité, la répétitivité et la sensibilité de la réponse sont telles qu'elles sont à l'origine d'un test de dépistage des potentiels cancérogènes, l'Oncotest (11) (15).



Certaines substances sont incapables de discerner l'A.D.N. selon son origine saine ou cancéreuse et n'ont aucune action sur l'une et l'autre synthèse : ces substances sont dites neutres (fig. 3). D'autres substances inhibent l'une et l'autre synthèse, sans distinction (figure 4), indiquant une toxicité essentiellement manifestée au niveau de l'enzyme, non à celui des A.D.N.

De l'ensemble de ces observations, il apparaît clairement que certains cancérogènes recon-

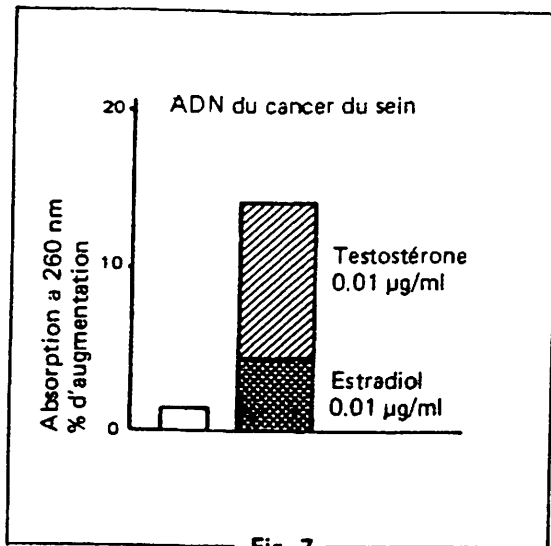


et augmentent encore une capacité de synthèse déjà fortement accélérée par rapport aux A.D.N. normaux.

On sait que la stabilité des liaisons hydrogènes reliant les deux brins des A.D.N. peut être évaluée par l'hyperchromicité de l'A.D.N. (augmentation du coefficient d'extinction de l'A.D.N.). Un A.D.N. complètement «ouvert» en présence de KOH 0.3 N possède une hyperchromicité d'environ 40-50 %.

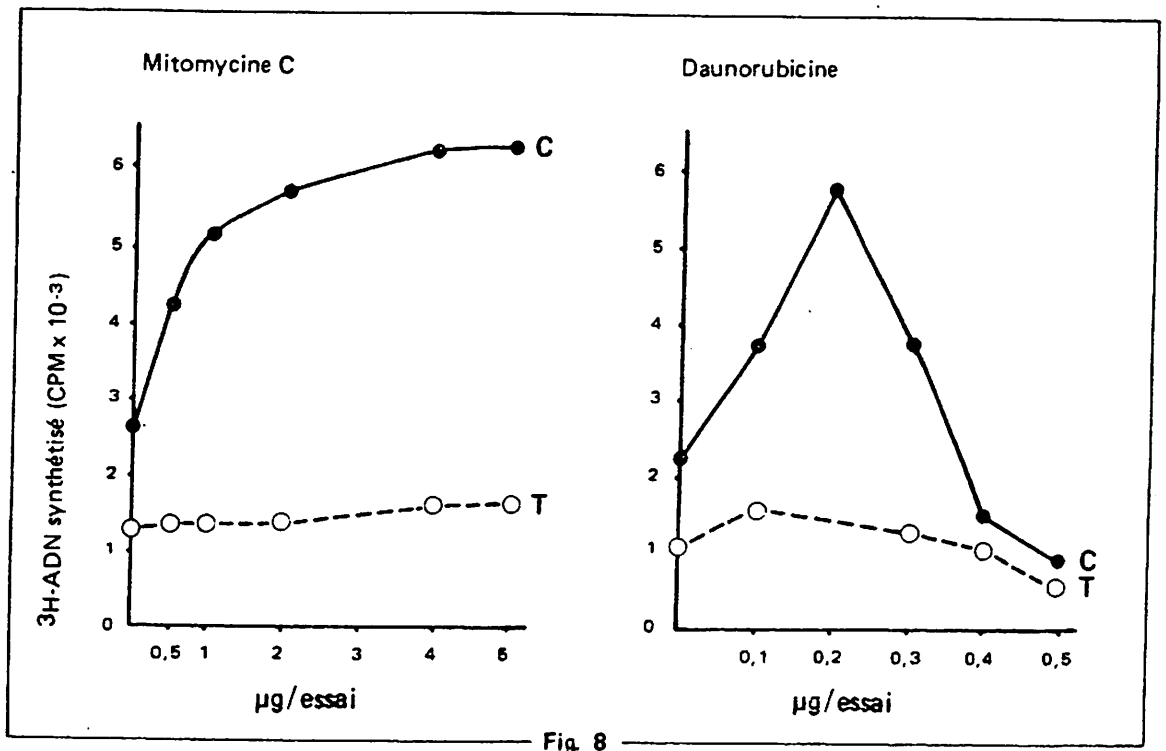
Nous avons mesuré l'hyperchromicité des A.D.N. isolés de cellules saines et cancéreuses en présence de cancérogènes. La figure 5 montre, et ceci se répète pour tous les A.D.N. provenant de tissus cancéreux, quelle que soit leur origine (humaine, animale ou végétale), que les cancérogènes augmentent l'hyperchromicité des A.D.N., très notablement lorsque ceux-ci proviennent de tissus cancéreux. La corrélation est parfaite entre l'augmentation du pouvoir matriciel et l'augmentation de l'hyperchromicité. L'additivité de l'hyperchromicité en présence de différents agents correspond à l'impact de ces substances sur des sites différents de l'A.D.N. et se retrouve sur des plateaux successivement plus élevés de l'aptitude matricielle de l'A.D.N.-cancer en présence de ces mêmes substances.

Ainsi, l'Oncotest permet de mettre clairement en valeur d'une part les différences physico-chimiques de structures secondaires entre les A.D.N.-sains et les A.D.N. provenant de tissus cancéreux et d'autre part, il permet de visualiser le rôle fondamental joué par certaines molécules lorsqu'elles se fixent à l'A.D.N. : cancérogènes, hormones stéroïdes entre autres. L'hormone stéroïde, bien que non mutagène, stimule fortement la synthèse des A.D.N. des tissus cancéreux provenant d'organes hormono-dépendants (figure 6), ouvre les chaînes de ces mêmes A.D.N. (figure 7) et peut



L'expérimentation animale, et hélas des traitements à long terme utilisant les substances de chimiothérapie en cancérologie humaine, ont montré qu'en dehors de leur forte cytotoxicité, ces substances peuvent induire des cancers secondaires. La grande sensibilité et précision de l'Oncotest met ce danger en évidence en quelques heures (figure 8).

La destabilisation de faible amplitude exercée sur les cellules saines peut, à la longue et surtout après l'emploi de polychimiothérapie forcer la résistance qu'oppose une cellule saine. Des molécules exogènes ou endogènes peuvent alors s'intercaler dans les zones de moindre résistance ainsi créées, et le processus, en s'étendant de proche en proche, créer un seuil de destabilisation au delà



duquel la cellule bascule dans le camp pathologique.

L'équilibre et la symétrie des lois biologiques suggèrent l'existence de substances capables, comme les cancérogènes, de distinguer les A.D.N. destabilisés par rapport aux A.D.N. des cellules saines mais, à l'inverse de ceux-ci, d'inhiber la synthèse en s'opposant à l'ouverture des chaînes.

Nous savons que la synthèse nécessite un certain degré d'ouverture des chaînes d'A.D.N. que, dans une certaine mesure, les enzymes présents peuvent réaliser. Les cancérogènes ou les hormones accélèrent ce processus. En s'y opposant, une substance peut non seulement bloquer la synthèse mais également empêcher l'action des cancérogènes.

substances naturelles, végétales, capables en effet de reconnaître sélectivement les seuls A.D.N. destabilisés (A.D.N. des tissus cancéreux en particulier), de s'y fixer et de bloquer leur réplication (figure 9). De telles substances sont des anti-cancéreux spécifiques. Nous avons montré qu'elles agissent comme cytotoxiques de la cellule cancéreuse uniquement et, qu'in vivo, elles sont d'excellents inhibiteurs de la multiplication des cellules cancéreuses mais épargnent les cellules saines (16).

La figure 10 montre que, même en présence de cancérogènes, ceux-là même qui stimulent si fortement la synthèse des A.D.N. destabilisés (revoir la figure 2), l'anti-cancéreux spécifique blo-

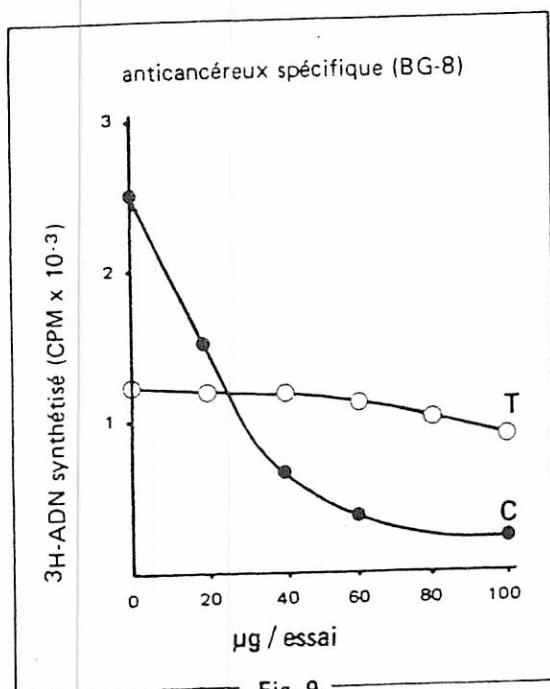
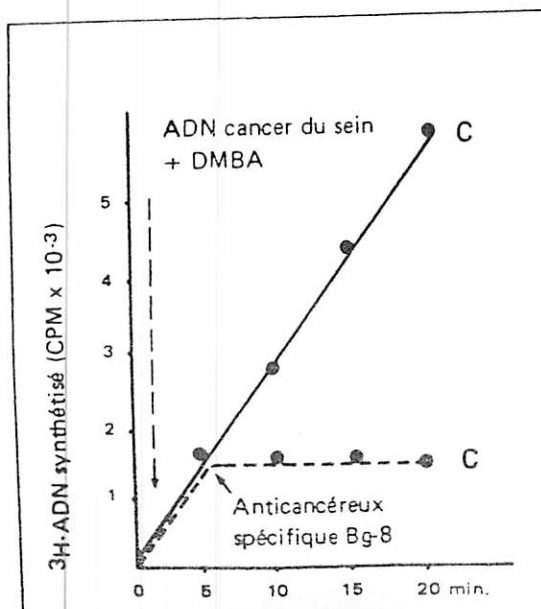


Fig. 9



que la réplication de l'A.D.N. et ne permet plus aux cancérogènes d'exercer leur action.

Ainsi, l'Oncotest peut-il très rapidement (une à trois heures), de façon très sensible, donner un ensemble de réponses tout à fait saisissant : potentiels cancérogène, neutre, toxique et spécifiquement anti-cancéreux. Il peut en outre montrer la compétition entre telle ou telle substance pour un site donné, la synergie d'action de deux ou de plusieurs substances, détecter l'impact d'un produit sur un organe via son A.D.N. L'Oncotest permet de progresser très rapidement dans la compréhension des processus de cancérisation en ce qu'il met en évidence les diverses actions des substances sur les gènes, les interactions, compétitions. Maints exemples montrent que très généralement ceci est le reflet de ce qui se passe in vivo. Mais, grâce à l'Oncotest, il suffit de quelques heures pour le prévoir. Sur le plan théorique, la différence entre les deux types d'A.D.N. permet d'expliquer de très nombreux faits, de les corroborer tant en cancérologie qu'en différenciation cellulaire. La cancérogénèse s'éclaire d'un jour nouveau, n'impliquant pas les mutations. Sur le plan pratique, cette différence permet de concevoir des substances n'agissant que sur les cellules cancéreuses. Or, jusqu'à présent, tous les traitements classiques des cancers sont basés sur la haute toxicité des substances utilisées, toxicité souvent dramatique pour les cellules saines.

L'Oncotest est extrêmement sensible, trop, diront certains. Il nous apparaît essentiel de mesurer précisément les inconvénients inhérents à l'utilisation à long terme de telle ou telle substance. Il est fort fréquent que la toxicité ou le potentiel cancérogène soient liés, non à la substance principale, mais à un contaminant, colorant ou substance provenant de charbons, parfois introduits lors de la purification ou liés au mode d'isolement. Une simple étape modifiée peut permettre d'obtenir un produit parfait et alors la sensibilité de l'Oncotest fournit un véritable label de qualité du produit en question.

Utilisé avec soin et discernement, l'Oncotest peut rendre des services inestimables, soit sonner l'alarme pour la présence d'un cancérogène, soit détecter des substances qui barrent la route aux cancérogènes. A cet égard, la mise en évidence par l'Oncotest de substances spécifiquement anti-cancéreuses non toxiques pour les cellules saines, permet d'envisager des traitements préventifs et une voie nouvelle de thérapie des cancers.

## BIBLIOGRAPHIE

1. Ames, B.N., Durston, N.E., Yamasaki, E., et Lee, F.D. Carcinogens are mutagens : a simple test system combining liver homogenates for activation and bacteria for detection. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 70 : 2281-2285 (1973).
2. Cairns, J. Mutation and the natural history of cancer. *Nature* 255 : 197-200 (1975).
3. Le Pecq, J.B. Chimiothérapie anti-cancéreuse. (Actualités scientifiques et industrielles 1388) Herman. Editeurs des Sciences et des Arts. p.39 (1978).
4. Moyzis, R.K., Grady, D.L., Li, D.W., Mirvis, S.E., and Ts'o P.O.P. Extensive homology of nuclear Ribonucleic acid and Polysomal (adenylic acid) messenger ribonucleic acid between normal and néoplastically Transformed cells. *Biochemistry* 19 : 821-831 (1980).
5. Braun, A.C. The Relevance of Plant tumor Systems to an Understanding of the basic cellular mechanisms underlying Tumorigenesis. *Prog. Exp. Tumor. Res.* 15 : 165-187 (1972).
6. Benedict, W.F., Backer, M.S., Haroun, L., Choi, E., and Ames, B.N. Mutagenicity of cancer chemotherapeutic Agents in the Salmonella/microsome test. *Cancer Research* 37 : 2209-2213 (1977).
7. Lacassagne, A. Hormonal pathogenesis of Adenocarcinoma of the breast. *Ann. J. Cancer* 27 : 217-228 (1936).
8. Ryser, H.J.P. Chemical carcinogenesis. *N. Engl. J. Med.* 285 : 721-734 (1971).
9. Kawamata, J., Nakabayashi, N. Kawai, A., and Ushida, T. Experimental production of Sarcoma in mice with actinomycin. *Med. J. Osaka* 8 : 753-762 (1958).
10. Sieber, S.M., and Adamson, R.H. Toxicity of antineoplastic Agents in man, chromosomal aberrations, Antifertility Effects, Congenital malformations and Carcinogenic Potential. *Advan. Cancer Res.* 22 : 57-155 (1975).
11. Beljanski, M., Bourgarel, P., and Beljanski, M.S. Correlation between in vitro D.N.A. synthesis, D.N.A. strand separation and in vivo multiplication of cancer cells. *Expl. Cell. Biol.* 49 : 220-231 (1981).
12. Watson, J.D. *Molecular Biology of the gene.* W.A. Benjamin Inc. New York (1965).
13. Beljanski, M., Beljanski, M.S., Plawecki, M., and Bourgarel, P. ARN-fragments, amorceurs nécessaires à la réplication in vitro des ADN. *C.R. Acad. Sc. Paris, série D*, 280 : 363-366 (1975).
14. Le Goff, L., and Beljanski, M. In vivo stimulation and/or inhibition of Crown-gall tumors. Correlation with in vitro DNA synthesis, DNA strand separation and ribonuclease activity. In *Proceedings of the Vth International Conference on Plant Pathogenic Bacteria. Cali (Columbia) août 1981.*
15. Beljanski, M. Oncotest : A DNA-assay system for the Screening of carcinogenic substances. *IRCS med. Sci.* 7 : 475 (1979).
16. Beljanski, M. En préparation.