

SUMMARY

The primary public health concern for the study of the effects of low dose ionising radiation is the protection of people from relatively low dose, protracted or fractionated exposures such as those received by the public in the general environment, by patients through repeated diagnostic procedures and by radiation workers. The risk associated with exposure to low dose ionising radiations are not only neoplastic diseases but also somatic mutations that may contribute to other illnesses (including birth defects and diseases) and heritable mutations that may increase the risk of diseases in future generations. Physical dosimetry cannot always be relied upon, so dose estimates and determination of past radiation exposure must often be based upon biological indicators.

The results presented in this thesis are based on studies, using biological indicators, performed on 2 groups of workers acutely or chronically exposed to low level ionising radiations in a nuclear power plant. The third study was performed on young, healthy university students recruited as volunteers. In the first approach we compared the DNA strand break repair phenotype and genotoxic effects in these two groups of workers using the Comet assay and the micronucleus test. There was a slight and statistically non significant increase in tail DNA in the exposed population of the acute exposure study and a slight decrease in tail DNA in workers chronically exposed compared to their controls. The acutely exposed smokers had higher tail DNA compared to the acutely exposed non smokers. The ex-vivo micronucleus assay showed that there was no influence of exposure on micronuclei frequency. In the acute exposure study, the control smokers had higher micronuclei frequency compared to the control non smokers. The same was true only for the control population of the chronic exposure study. These results are an indication that smokers may be at an increased risk of genotoxic effects.

In the second approach, we genotyped all workers, exposed and controls alike in order to identify their genotype with respect to the following DNA repair genes polymorphisms: hOGG1, XRCC1 and XRCC3. We then compared the DNA strand breaks repair capacity and genotoxic effects to observe any differences that could be attributed to genotype alone. Results showed that at the population level, a significant contribution of the hOGG1 genotypes to the in vitro DNA strand break repair capacity was found. Genetic polymorphisms in XRCC1 and XRCC3 did not significantly influence repair capacity. At an individual level, the hOGG1 variants Ser/Cys and Cys/Cys genotypes showed a slower in vitro DNA repair than the Ser/Ser hOGG1 genotype. Genetic polymorphisms in XRCC1 resulted in higher residual DNA values and the Met/Met variant of XRCC3 resulted in an increased frequency of micronuclei. These results demonstrate the important role genetic polymorphisms can play in individual susceptibility to repair of induced DNA damage. Furthermore, this analysis confirmed that MN frequencies are reliable biomarkers for the assessment of genetic effects in workers exposed to ionising radiation.

Third, we were interested to know if what we observed in this relatively old population would be the same for a healthy, young population of no known history of exposure. We therefore performed a DNA strand breaks phenotype assay, micronucleus test and genotyping on 20 young university students. We compared the influence of 3 DNA repair (hOGG1, XRCC1 and XRCC3) and 2 folate metabolic (MTHFR and MS) genes on the DNA repair capacity and the induction of micronuclei. Results obtained confirmed that genetic polymorphisms in hOGG1 gene were an important determinant of repair of induced DNA damage. We also observed the influence of genetic polymorphisms in XRCC3 on the late phase (120 minutes) of repair during which repair involves mostly the rejoining of double strand breaks. We did not observe a significant influence of polymorphisms in the folate metabolic genes on the DNA strand breaks repair. The induction of micronuclei was not dependent on genetic polymorphisms for any of the genes in this study.

Finally we attempted to optimise a protocol for the measurement of hOGG1 activity in human blood. This protocol will be used in subsequent studies.

MN are reliable biomarkers for medical surveillance at the population of workers exposed to IR. In case of an unexpected increase in MN frequencies when population biomonitoring is performed, genotyping for XRCC3 could provide some valuable information to decide about the adequate measure to recommend for individual follow-up (exposure control or/and individual measures). Moreover, genotyping for hOGG1 and XRCC1 could provide additional information for these workers in danger of oxidative damage. Therefore we

advise a combined analysis of the three genotypes, OGG1, XRCC1 and XRCC3 polymorphisms in order to assess individual susceptibility to ionising radiation. As an alternative or complement, the in vitro DNA strand break repair phenotype which integrates several repair pathways is recommended. In any case, the workers with OGG1 polymorphisms who smoke and who are exposed to ionising radiation represent a specific population requiring a closer medical surveillance because of their increased mutagenic/carcinogenic risk. Knowledge folate status may be important in assessing the global risk.

Samenvatting

Het belangrijkste publieke gezondheidsprobleem voor het bestuderen van de effecten van ioniserende straling op een lage dosis, is het beschermen van mensen tegen relatief lage dosis, aanhoudende of onderbroken blootstellingen zoals deze voorkomen in de omgeving, bij patiënten via herhalende diagnostische procedures en bij werknemers blootgesteld aan straling. De risico's geassocieerd met blootstelling aan ioniserende straling op lage een dosis zijn niet alleen neoplastische ziekten, maar ook somatische mutaties die kunnen bijdragen tot andere ziekten (waaronder aangeboren aandoeningen en ziekten) en erfelijke mutaties die het risico op ziekten in toekomstige generaties kan verhogen. Fysische dosimetrie kan niet altijd vertrouwd worden, zodat schatting van dosissen en bepaling van voorgaande blootstelling aan straling vaak gebaseerd moet worden op biologische indicatoren.

De resultaten die in deze thesis gepresenteerd worden, zijn gebaseerd op studies uitgevoerd op twee groepen van werknemers van een kerncentrale, die acuut of chronisch werden blootgesteld aan ioniserende straling op een lage dosis. Voor het onderzoek werd gebruik gemaakt van biologische indicatoren. Een derde studie werd uitgevoerd op jonge, gezonde en vrijwillige universiteitsstudenten. In eerste benadering vergeleken we de genotoxische effecten en het herstelfenotype van DNA-strengbreuken in deze twee groepen van werknemers door gebruik van de comet- en micronucleustest. Er was een kleine, statistisch niet significante toename aan DNA in de staart bij de acuut blootgestelde populatie en een kleine afname aan DNA in de staart bij de chronisch blootgestelde werkers in vergelijking met hun respectievelijke controles. De acuut blootgestelde rokers hadden meer DNA in de staart in vergelijking met acuut blootgestelde niet-rokers. De ex vivo micronucleustest toonde aan dat er geen invloed was van de blootstelling op de frequentie aan micronucleï (MN). Bij de acuut blootgestelde werknemers hadden de controle-rokers een hogere frequentie aan MN in vergelijking met controle-niet-rokers. Hetzelfde werd gevonden voor de chronisch blootgestelde controlepopulatie. Deze resultaten geven de indicatie dat rokers een verhoogd risico kunnen hebben op genotoxische effecten.

In tweede benadering werden de genotypes bepaald voor alle werknemers, op dezelfde manier voor blootgestelden en controles, van volgende DNA-herstelgenen: hOGG1, XRCC1 en XRCC3. Vervolgens werden de genotoxische effecten en de herstelcapaciteit van DNA-strengbreuken vergeleken, om zo verschillen te observeren die mogelijk enkel te wijten zijn aan het genotype. De resultaten toonden aan dat er op populatieniveau een significante bijdrage was van de genotypes in hOGG1 op de in vitro herstelcapaciteit van DNA-strengbreuken. Genetische polymorfismen in XRCC1 en XRCC3 hadden geen significante invloed op de DNA-herstelcapaciteit. Op individueel niveau vertoonden de hOGG1 Ser/Cys varianten en Cys/Cys genotypes een trager in vitro DNA-herstel dan de Ser/Ser genotypes voor hOGG1. Genetische polymorfismen in XRCC1 resulteerden in hogere residuele DNA-waarden en de Met/Met variant van XRCC3 resulteerde in een toegenomen frequentie aan MN. Deze resultaten demonstreren de belangrijke rol die genetische polymorfismen kunnen spelen in de individuele gevoeligheid voor herstel van geïnduceerde DNA-schade. Verder bevestigde deze analyse dat MN-frequenties betrouwbare biomerkers zijn voor het bepalen van genotoxische effecten in werknemers blootgesteld aan ioniserende straling.

Als derde wilden we weten dat wat we observeerden in deze relatief oude populatie hetzelfde zou zijn voor een jonge, gezonde populatie zonder gekende voorgaande blootstelling. Hiervoor werden het fenotype voor DNA-strengbreuken en alle genotypes bepaald, alsook een MN-test uitgevoerd op 20 jonge universiteitsstudenten. De invloed van drie DNA-herstelgenen (hOGG1, XRCC1 en XRCC3) en twee genen uit het folaatmetabolisme (MTHFR en MS) op de DNA-herstelcapaciteit en de inductie van MN

werd vergeleken. De bekomen resultaten bevestigden dat genetische polymorfismen in het hOGG1-gen een belangrijke invloed hadden op het herstel van geïnduceerde DNA-schade. We observeerden eveneens de invloed van genetische polymorfismen in XRCC3 tijdens de late fase (120 minuten) van het herstel, wanneer dit voornamelijk het samenvoegen van dubbele strengbreuken inhoudt. Er werd geen significante invloed geobserveerd van polymorfismen in genen uit het folaatmetabolisme op het DNA-herstel van strengbreuken. De inductie van MN werd niet significant beïnvloed door genetische polymorfismen in deze studie.

Tenslotte werd geprobeerd het protocol te optimaliseren voor het bepalen van de hOGG1-activiteit in humaan bloed. Dit protocol zal gebruikt worden in verdere studies.

MN zijn betrouwbare biomerkers voor medisch toezicht van de populatie werknemers blootgesteld aan ioniserende straling. In geval van een onverwachte stijging in MN-frequenties bij biomonitoring van de populatie, kan genotypering voor XRCC3 belangrijke informatie geven om geschikte maatregelen te vinden voor individuele opvolging (controle van blootstelling en/of individuele maatregelen). Bovendien kan genotypering voor hOGG1 en XRCC1 additionele informatie geven voor deze werknemers die gevaar lopen voor oxidatieve schade. Daarom adviseren we een gecombineerde analyse van de drie genotypes, OGG1, XRCC1 en XRCC3 om de individuele gevoeligheid aan ioniserende straling te bepalen. Bijkomend of als alternatief wordt aanbevolen het in vitro herstelfenotype van DNA-strengbreuken, dat verschillende DNA-herstelwegen integreert, te bepalen. In elk geval vertegenwoordigen de rokende en aan ioniserende straling blootgestelde werknemers met OGG1 polymorfismen een specifieke populatie die een nauwer medisch toezicht vereist, omdat ze een verhoogd mutageen/carcinogeen risico lopen. Kennis over de folaatstatus kan belangrijk zijn om het globale risico te bepalen.