



# **VARIABILITE DE LA RADIOSENSIBILITE INTER-INDIVIDUELLE**

## **TESTS PREDICTIFS**

---

# VARIABILITE DE LA SENSIBILITE INDIVIDUELLE



**Effets non stochastiques/déterministes (fortes doses) plus dépendant de la dose et moins des individus – effets prévisibles**

**Effets stochastiques (faibles doses) moins dépendant de la dose et plus des individus**

**Cependant la variabilité interindividuelle a été mise en évidence après radiothérapie, donc à fortes doses**

**dommages des tissus sains**

**tumeurs radioinduites**

---

# ORIGINES DE LA VARIABILITÉ

## **Facteurs génétiques majeurs**

**Bloom  
ataxia  
xeroderma  
Fanconi**

**Maladies liées à des mutations autosomales récessives  
dans des gènes impliqués dans la réparation de l'ADN  
Les individus hétérozygotes sont-ils prédisposés aux  
cancers?**

## **Facteurs génétiques mineurs**

**suspectés par la variabilité de la réaction des tissus  
sains à la radiothérapie - gènes non identifiés**



---

# **FACTEURS EPIGENETIQUES**

## **Radiosensibilité cellulaire ou tissulaire**

**Cellules proliférantes plus sensibles que cellules non proliférantes**  
**système digestif, cellules hématopoïétiques**

**-Age: pas de relation linéaire entre la radiosensibilité et l'âge**

**-Sexe: les hommes sont plus résistants que les femmes test MN?**  
**la dispersion de la variabilité est plus importance chez les femmes que chez les hommes**

**-Facteurs épigénétiques et environnementaux**  
**hormones      nutrition**  
**alcool          tabac**



---

## CAUSES DE LA VARIABILITÉ

**On peut admettre que la variabilité individuelle de la radiosensibilité est liée, en grande partie, à la variabilité interindividuelle à :**

- réparer les lésions radioinduites dans l'ADN et/ou à**
- éliminer les cellules endommagées**



# **TESTS PHENOTYPIQUES POUR MESURER LA VARIABILITE INTERINDIVIDUELLE DE LA RADIOSENSIBILITE**

---

## Tests prédictifs de la radiosensibilité



**Qu'est ce que la radiosensibilité?**

**Effets précoces-----Effets tardifs**

**Quelles cellules?**

**Quels tests?**

**Survie cellulaire**

**Cassures de l'ADN**

**Réparation des altérations**

**Génotoxicité**

**Apoptose**

**Cancers**

**A quelle(s) dose(s) faut-il travailler?**

**Sensibles**

**Proportionnels à la dose**

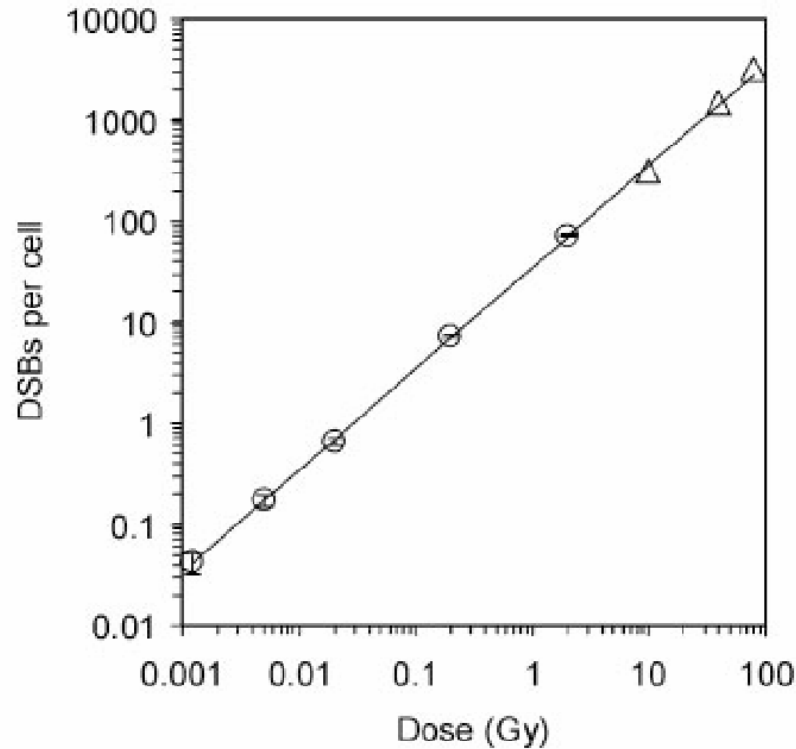
**Reproductibles (intra- inter-laboratoires)**

# Phosphorylation de l'histone $\gamma$ H2AX sur des fibroblastes

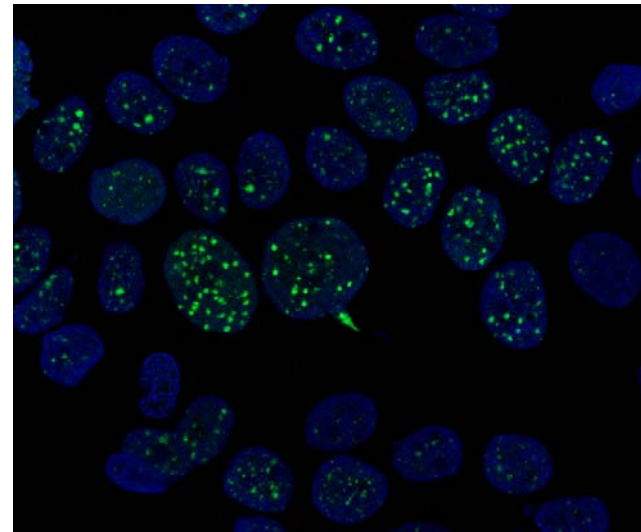
En fonction de la dose d'irradiation



Double strand breaks DSBs



**DSBs appear at 1 mGy**  
**Linear induction of DSBs ,**



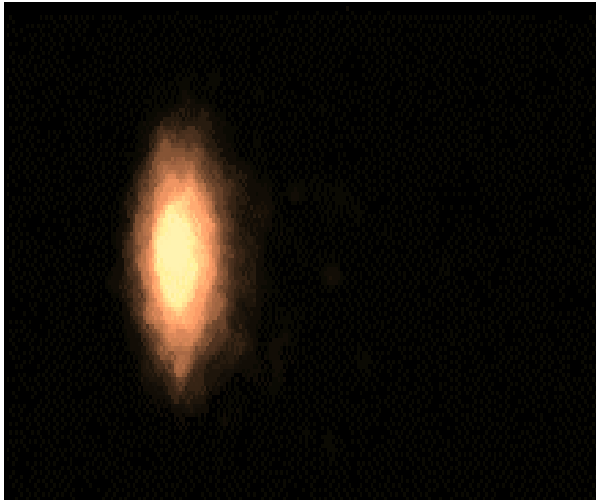
Rothkamm et Löbrich, PNAS 2003;100:5057-5062



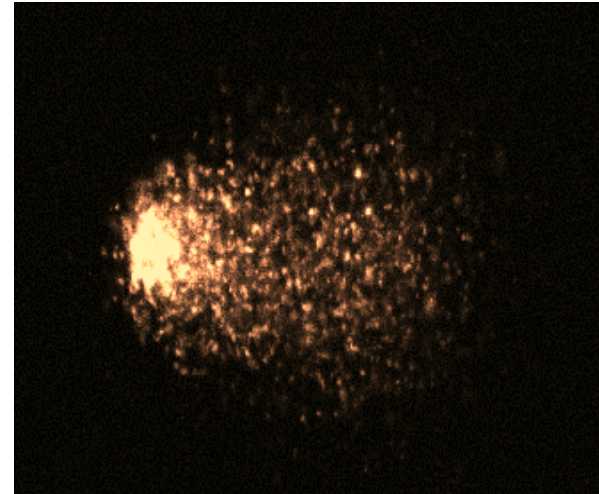
---

# CASSURES DE L'ADN

## TEST DES COMÈTES

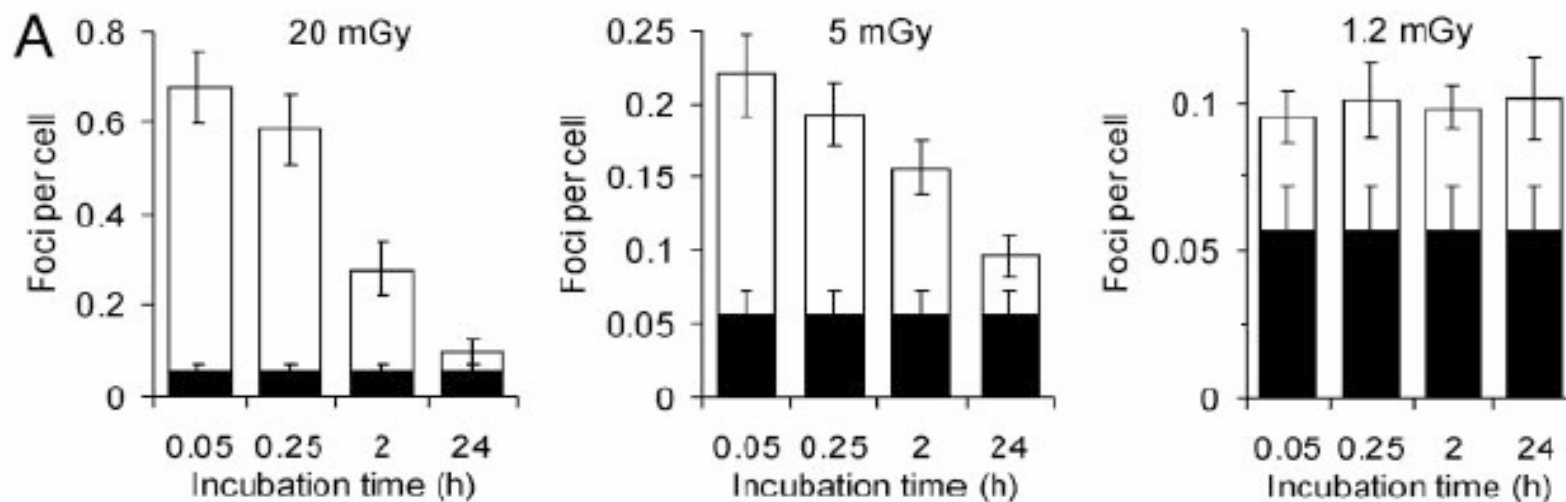


**Témoin**



**ADN cassé**

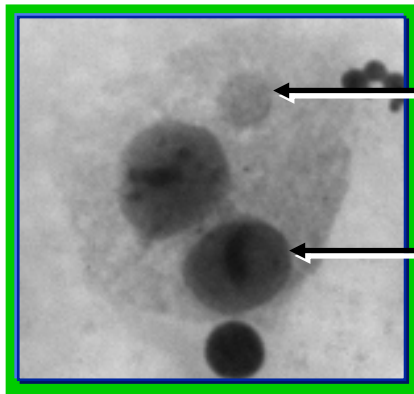
## Réparation des cassures DB fibroblastes



 **Absence de réparation à la plus faible dose**

Rothkamm and Löbrich 2003 Proc. Natl. Acad. Sci. USA 100(9):5057-5062

## LE TEST DES MICRONOYAUX



Micronoyau  
fragment de chromosome

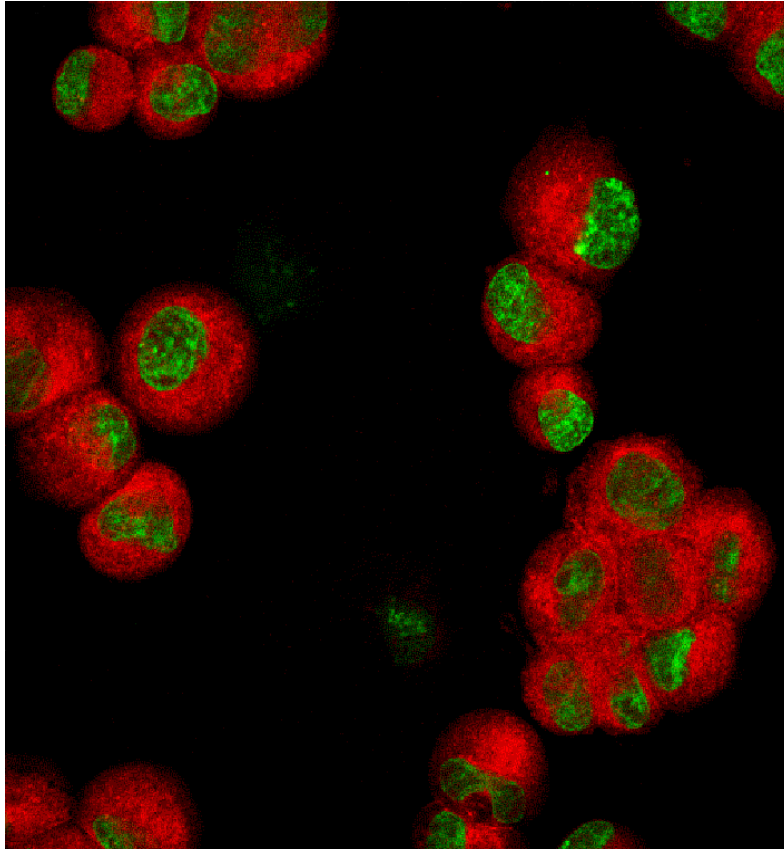
Cellule binucléée

**Technique de blocage à la cytochalasine B (Fenech et coll. 1985)**

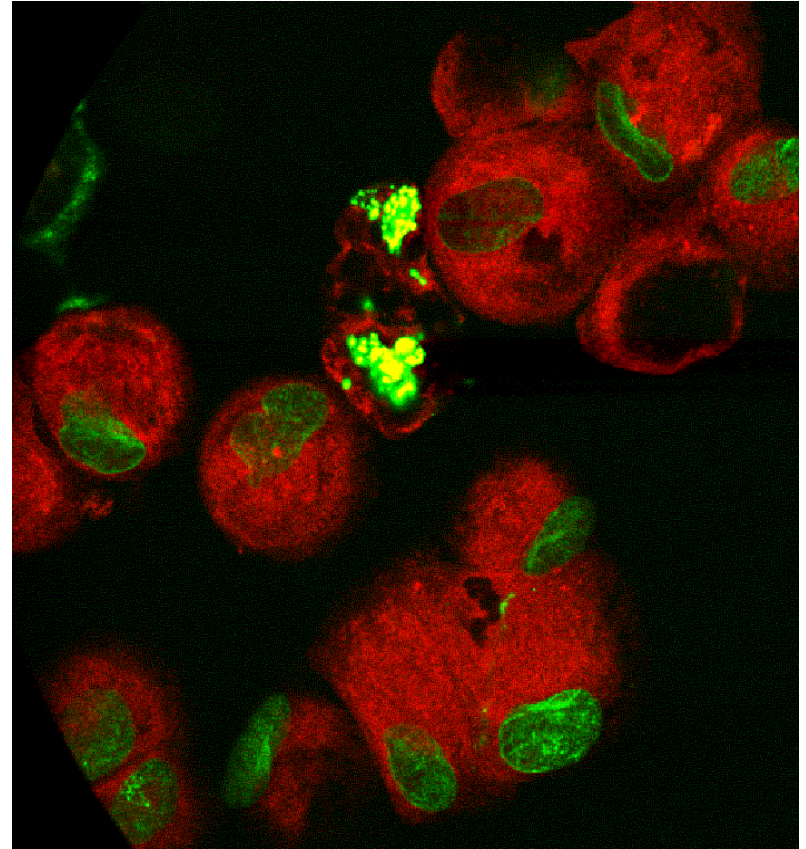
**Informations sur la génotoxicité et la prolifération**

---

# APOPTOSE - TEST TUNEL



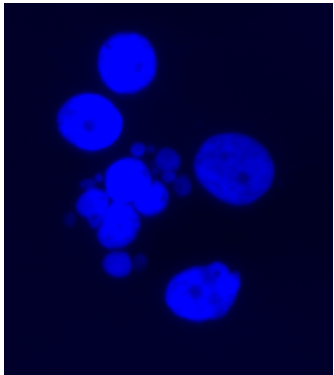
**Témoin**



**Cellules apoptotiques**

- On observe une protection contre la mort radioinduite par la progestérone uniquement dans les cellules exprimant le récepteur à l'hormone.
- Cette protection est indépendante du statut de p53 ou de l'effet de l'hormone sur la prolifération

### MORT CELLULAIRE = APOPTOSE



Hoechst 33258

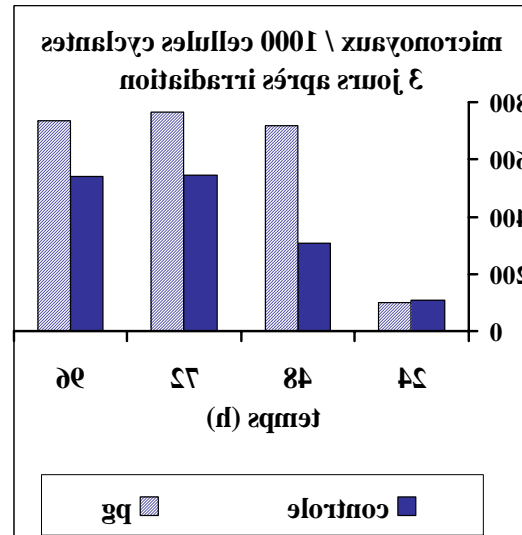
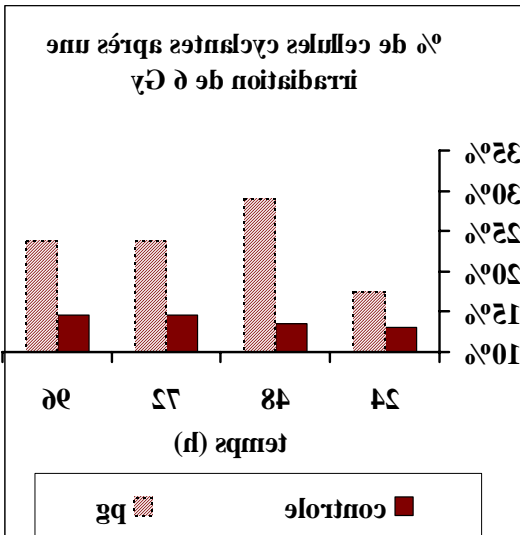
On observe après marquage au Hoechst 33258 des cellules présentant une condensation de la chromatine et des corps apoptotiques

→ La progestérone protège contre l'apoptose radioinduite

RESISTANCE A L'APOPTOSE.....

# Dénombrement d'aberrations chromosomiques

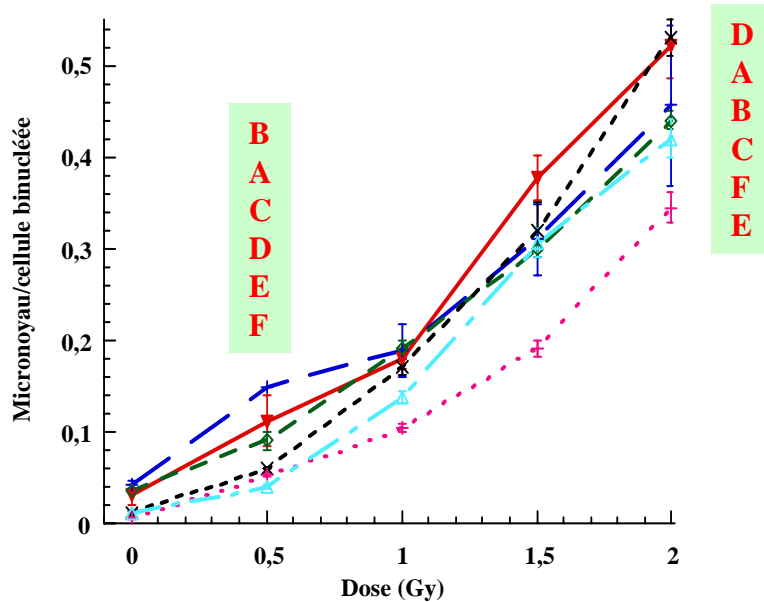
## test des micronoyaux



**Après irradiation,**  
**la progestérone augmente :**  
 - le taux de cellules cyclantes  
 - le taux d'aberrations chromosomiques dans les cellules cyclantes

# La complexité des réponses

## Variabilité inter- et intra-individuelle de radiosensibilité

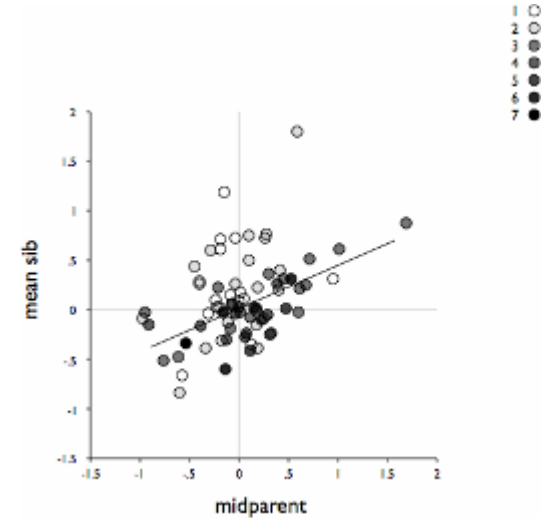


donneurs sains non apparentés

Quel(s) phénotype(s)?  
Quelles doses?  
Origine de la variabilité?

## Héritabilité de la susceptibilité à l'apoptose radioinduite des lymphocytes humains

38 familles du CEPH  
Irradiation ex-vivo



Moyenne des phénotypes des parents en R  
avec moyenne des phénotypes de la fratrie

transmission mendélienne impliquant un gène dominant

Quel gène?  
Polymorphismes?

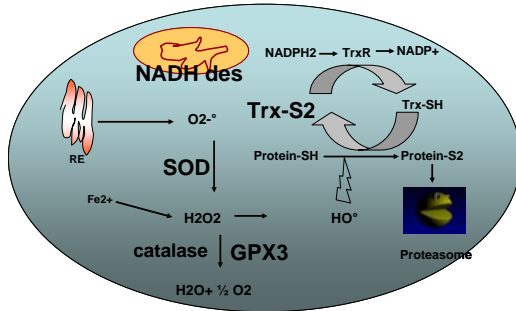
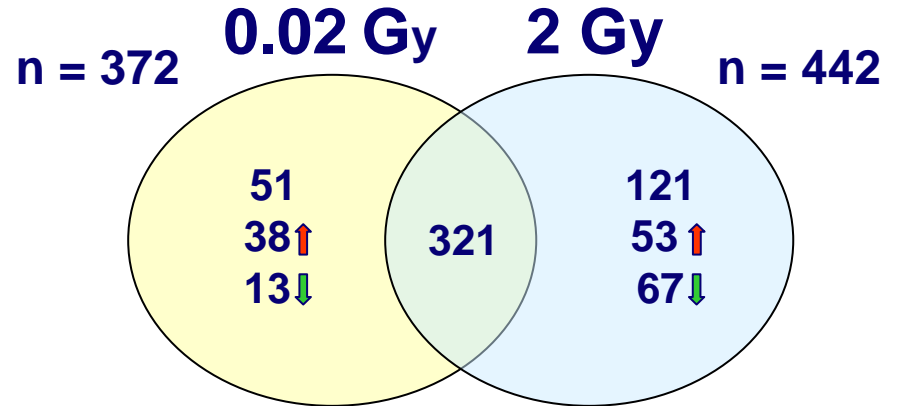
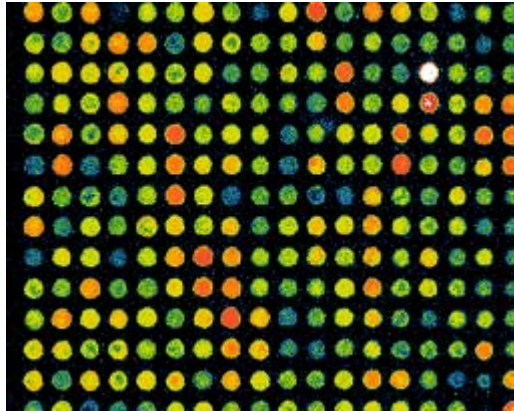
Extrapolation linéaire... de plus en plus complexe!



# Est-il possible d'extrapoler des fortes aux faibles doses ? (1)

	0,02	2 Gy
U48722	0.12	0.43
M19722	0.16	1.06
M88163	0.19	0.99
U70981	0.19	3.04
AF10015	0.22	0.62
X16064	0.24	1.05
U00672	0.28	0.35
X04409	0.28	0.93
AF09287	0.3	3.69
X78706	0.35	0.89
M58596	0.37	0.96
X68314	0.37	1.01
U26726	0.38	0.4
M63625	0.38	1.06
U32576	0.4	1.06
U04313	0.4	1.94
U40379	0.41	1.31
X69181	0.45	1.04
Y00978	0.45	1.11
M13142	0.45	
X00351	0.46	1.85
U28963	0.47	0.31
X15606	0.47	
X52486	0.48	1.01
L18974	0.5	0.44
X78712	0.52	1.18
M14219	0.56	0.41
X80343	0.56	1.06
X79389	0.56	1.13
U09366	0.56	
U14966	0.57	0.38
M64716	0.58	
U90942	0.59	2.37
U86136	1.96	1.85
M15661	2.04	1.01
J00128	2.09	0.9
D30655	2.18	1.07
J02639	2.18	1.4
U41668	2.19	0.39
L20971	2.19	0.9
U46571	2.21	2.63
M91196	2.26	
X06272	2.28	2.13
K02765	2.29	0.93
AF07401	2.32	1.25
X81053	2.34	0.34
M77640	2.35	0.72
M88714	2.38	0.82
J05459	2.39	0.63
M14766	2.58	1.48
U17280	2.68	1.82
AF03596	2.74	1.06
X53414	2.75	
AF05205	2.76	0.99
U33822	2.76	2.4
M20560	2.93	0.62
M80646	2.95	
X65882	3	1.36
AB00187	3.08	0
X59350	3.08	1.96
AF03995	3.13	0.48
L20316	3.13	
U33053	3.15	2.06
AB00050	3.16	1.32
M98776	3.79	1.51
X78947	3.99	0.95
J03912	5.67	1.18
AF06401	6.4	5.91

## Analyse du transcriptome



**Selon les gènes, on observe une relation**

- oui / non
- à seuil
- dose réponse

**L'extrapolation linéaire sans seuil...  
Oui, mais pas toujours!**



---

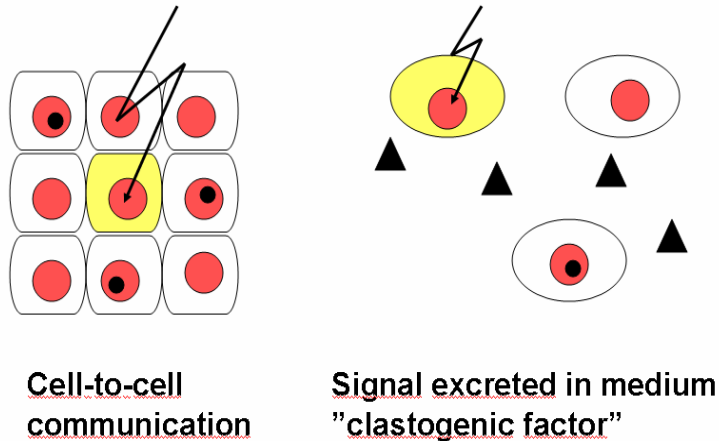


# **ENCORE PLUS COMPLEXE!**

**Adaption  
Bystander  
Instabilité génétique différée**

# La complexité des effets

## Signalling of bystander response



## Mort des cellules

- irradiées (~ dose)
- voisines non irradiées (non ~ dose)

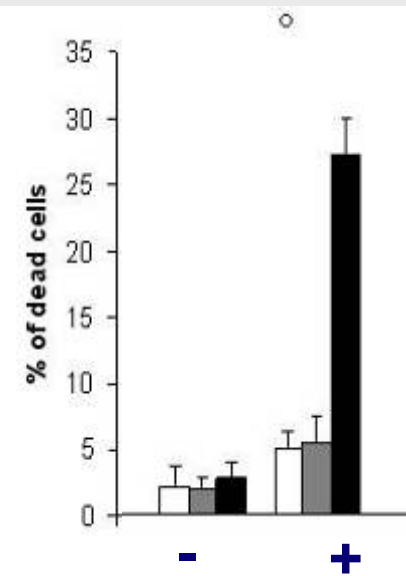
Quels sont les signaux?  
Pourquoi certaines cellules sont-elles émettrices et/ou réceptrices?

L'extrapolation linéaire sans seuil...  
Non!

## Les effets indirects de l'irradiation

- réponse adaptative
- effets à distance
- hypersensibilité aux faibles doses
- instabilité génomique différée
- mort différée

Cellules non irradiées incubées avec du milieu de cellules irradiées



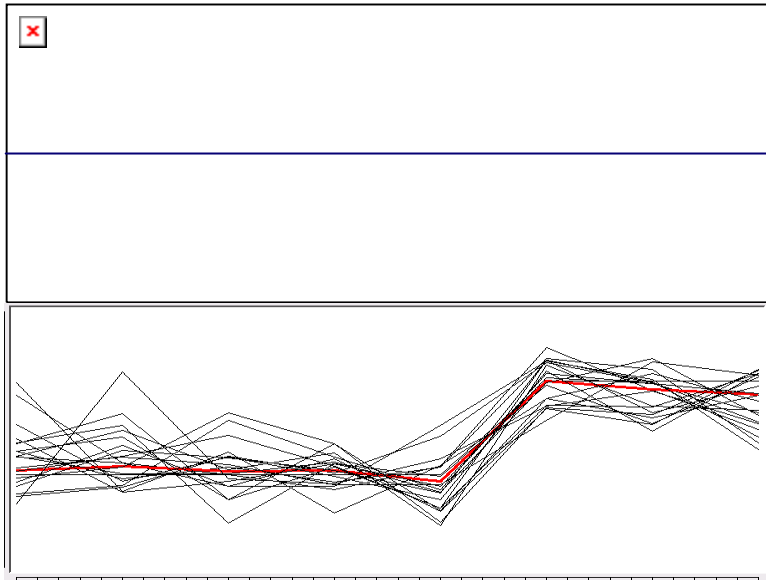
# RISQUE DE CANCER AUX FAIBLES DOSES D'IRRADIATION



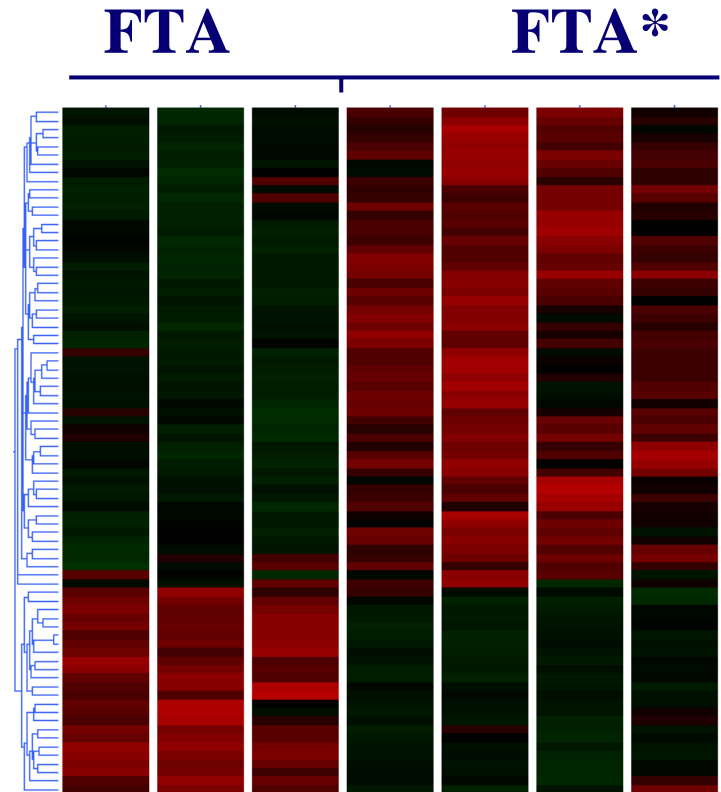
Il existe une masse considérable de données scientifiques au niveau moléculaire et cellulaire **mais ces résultats sont obtenus avec des doses élevées de rayonnements**

- ❖ Meilleure identification des tumeurs radio-induites parmi tous les cancers (l'irradiation entraîne le plus souvent des pertes de fragments de gènes ou chromosomes)
- ❖ Rechercher des marqueurs (signatures) spécifiques au niveau des gènes
- ❖ Améliorer la connaissance des cancers : diagnostic précoce et traitement
- ❖ Développer l'épidémiologie moléculaire **RISQUE AUX FAIBLES DOSES**

# Diagnostic moléculaire des cancers radio-induits de la thyroïde



**Gènes différentiellement exprimés**



---

# RECHERCHE DE MARQUEURS PRÉDICTIFS DE LA VARIABILITÉ INTERINDIVIDUELLE DE LA RADIOSENSIBILITÉ

---



## Stratégies expérimentales possibles

Facteurs génétiques

---

Facteurs épigénétiques et environnementaux

---

ADN  
mutations  
polymorphisme

ARN  
RT-PCR  
Transcriptome

Protéines  
Western blot  
Activité  
Protéome