

# Actualités sur les réponses cellulaires à l'irradiation Part.1

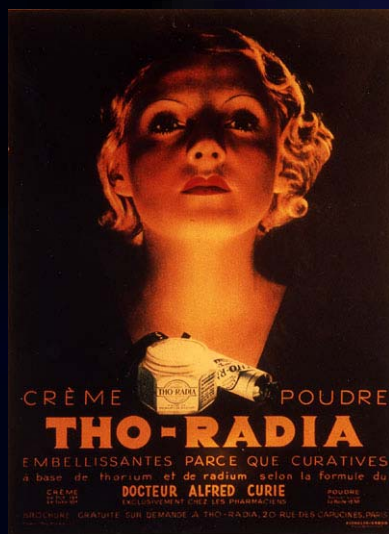
*Dr Bernard Le Guen*

*EDF/Gaz de France  
Service Central d'Appui en Santé au Travail (SCAST)*

*Président de la section Recherche et Santé  
Société Française de Radioprotection*

# Cancer radio-induit

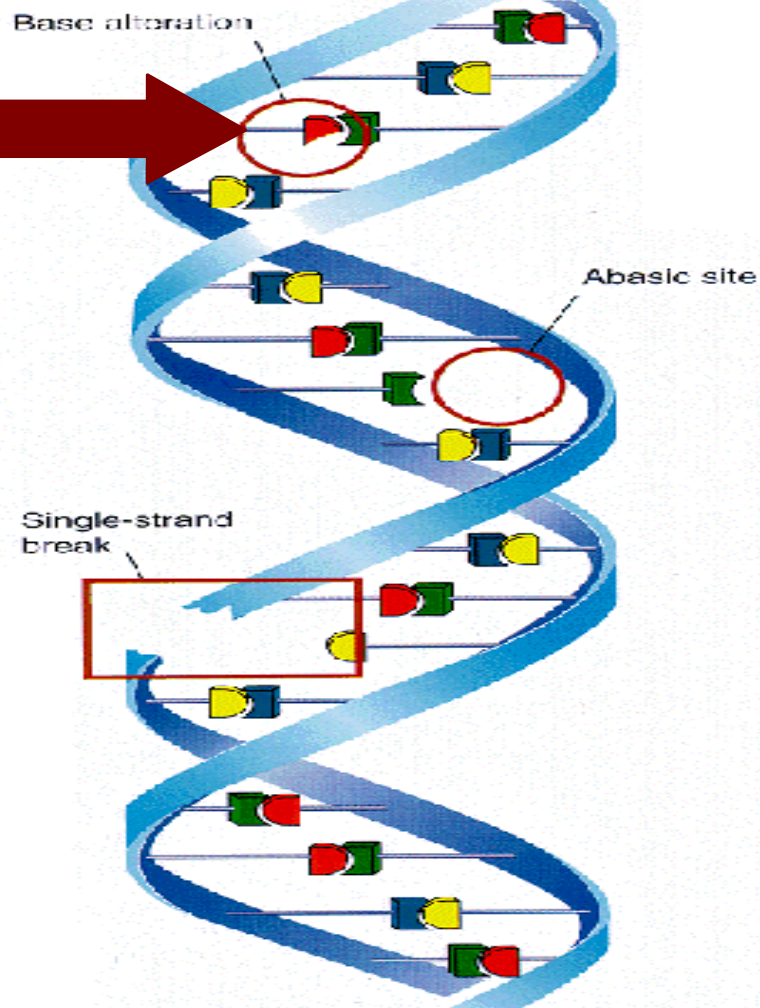
- ☑ Cancers radio-induit - Frieben ( 1902) Demonstration eines Carcinoms des rechten Handrückens, das sich nach langdauernder Einwirkung von Röntgenstrahlen entwickelt hatte. *Fortschr Geg Röntgenol* 1902;6:106
- ☑ dès 1920, mise en garde médicale contre l'utilisation du radium
  - ☒ ostéomyélite du maxillaire des ouvrières (radium jaw)
- ☑ 1928 : la CIPR recommande les premières limites professionnelles d'exposition
- ☑ L'équilibre coût-bénéfice immédiat a eu pour conséquence une sous-évaluation des conséquences à long terme



# Connaissances actuelles

- les données épidémiologiques dans la gamme des faibles doses
  - trop peu robustes pour permettre d'exclure et encore moins d'affirmer l'existence d'un effet cancérogène proportionnel à la dose,
- une exception : les expositions *in utero* des foetus pour lesquels un effet cancérogène a été rapporté pour des doses de l'ordre d'une dizaine de mSv, prudence sur l'étude d'oxford

## Comment l'ADN est-il réparé ?



- « on a longtemps cru que toute irradiation aussi faible soit-elle était dangereuse car pouvait entraîner une lésion susceptible d'évoluer vers un cancer »

# Processus de radiocancérogénèse

- AVANT:

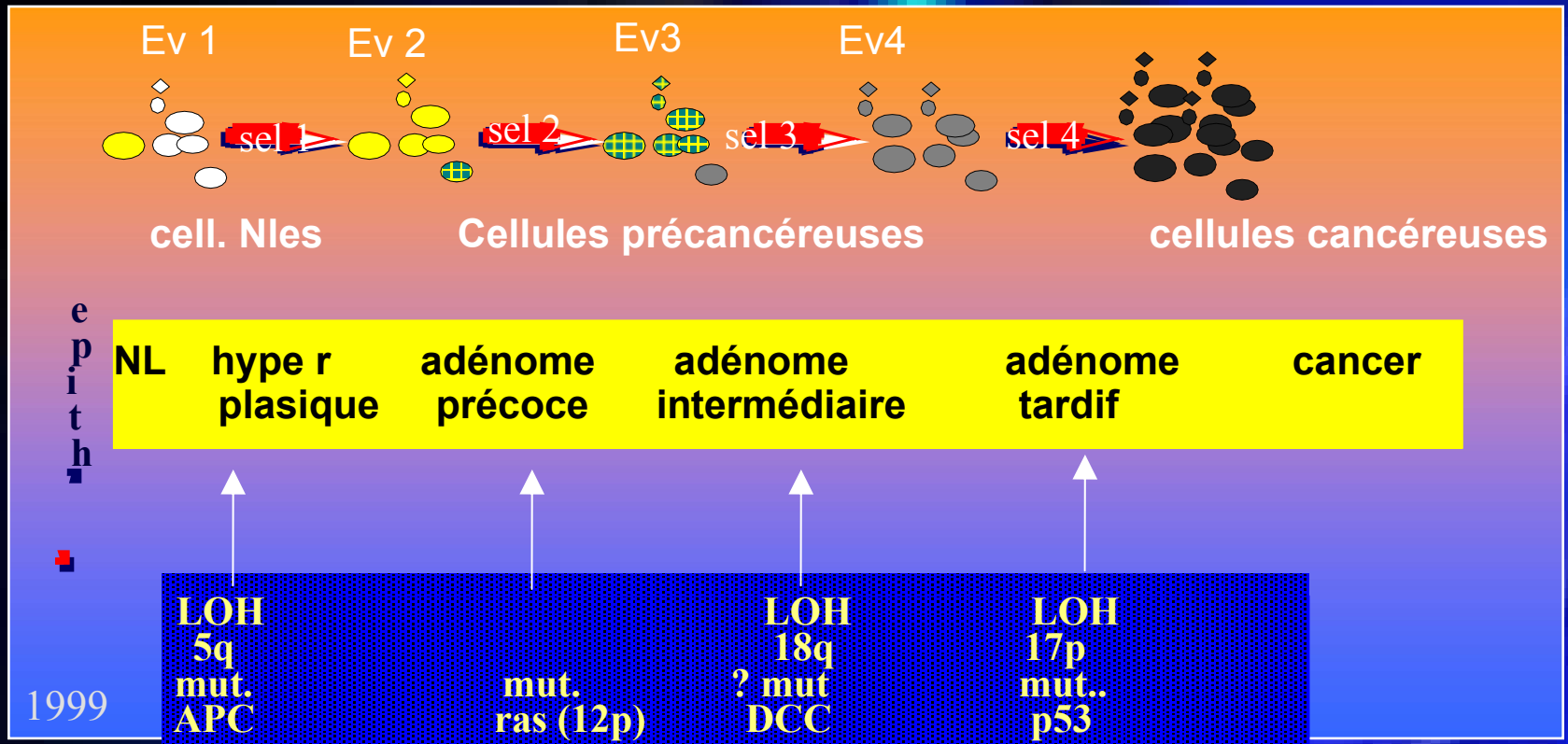
- initié par des lésions spécifiques du génome , chaque lésion s'ajoutant aux lésions précédentes
- processus considéré comme un risque stochastique:
  - un événement rare généré par la survenue aléatoire d'une lésion dans une cible.

- AUJOURD 'HUI :

- réaction complexe, inductible, dominée par des mécanismes de signalisation intra et intercellulaire, dépendant du stress oxydatif.

- Les mécanismes de la cancérogénèse sont sensibles
  - au microenvironnement cellulaire
  - à l'interaction entre les cell. initiées et les cell. saines,
    - révèlent l'intrication de mécanismes génétiques et épigénétiques

# Carcinogenèse multi-étape: cancer du colon



- la contribution des interactions multiples entre la cellule siège d'un événement génétique potentiellement oncogène, et les cellules voisines de même nature, la matrice extracellulaire

# Échappement

- mutations ponctuelles
  - Remplacement d'un AA:
    - Création d'un épitope reconnu comme du non-soi par le système immunitaire
    - surveillance immunitaire chargée d'éliminer les cellules tumorales  
Obstacle à l'expansion de la cell. transformée
    - si échappe ....mais besoin de temps
- L'échappement repose sur la sélection par le système immunitaire de cellules capables de lui échapper [Pardoll, 2001],
  - par exemple par la perte d'expression des éléments du complexe majeur d'histocompatibilité.

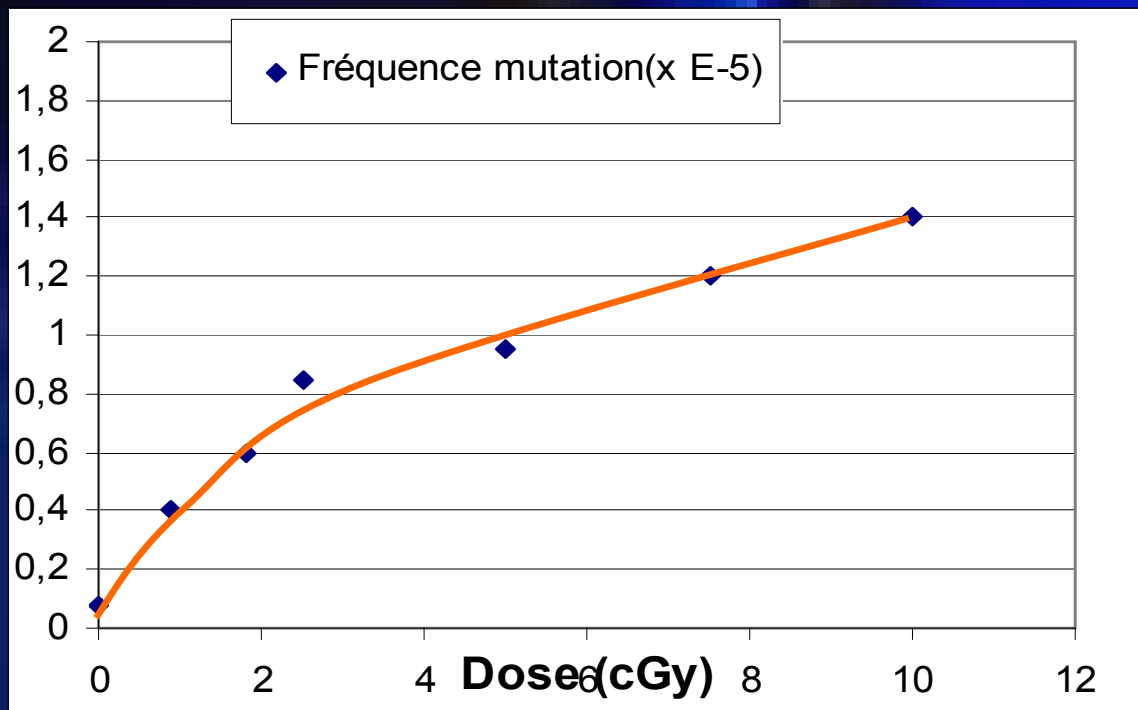


# Effet Bystander

- Un signal est émis par une cellule touchée vers des cellules non irradiées permettant ainsi l'observation d'un effet biologique dans les cellules non exposées.
  - s'exprime surtout pour des faibles doses de rayons alpha [Ballarini 2002, Brenner 2002].



# Relation dose-réponse pour l'induction de mutations au locus HPRT chez des cellules CHO par des fluences faibles de particules $\alpha$ (Nagasawa et Little, 1999)



- La réponse curvilinéaire aux faibles doses (0-2cGy) est le résultat de mutations survenant chez les cellules bystander non irradiées

# Effet Bystander observé à bas ou haut TEL



Cellule binucléée

- mutation de gènes spécifiques (Nagasawa et Little, 1999)
  - formation de micronoyaux = Dommage ADN et apoptose dans les cellules by-stander (Prise et al, 1998, Belyakov et al, 2001), mort des cellules déficientes pour la réparation de l'ADN altéré [Mothersill 2004].
  - modulation de l'expression de certains genes : rôle central de p53, mais aussi CDC2, CyclineB1 et rad51 (Azzam et al. 1998)
- Induction de ROS (Reactive oxygen Species), sécrétions de cytokines et autres facteurs (Little, 1992) ,
  - Rôle des gap junction et de signaux membranaires pour la communication cellulaire (Azzam et al, 2001)

• 90% des mutations sont ponctuelles (à l'inverse des délétions dues aux RI) (Huo et al 2001)



Rôle du métabolisme oxydatif

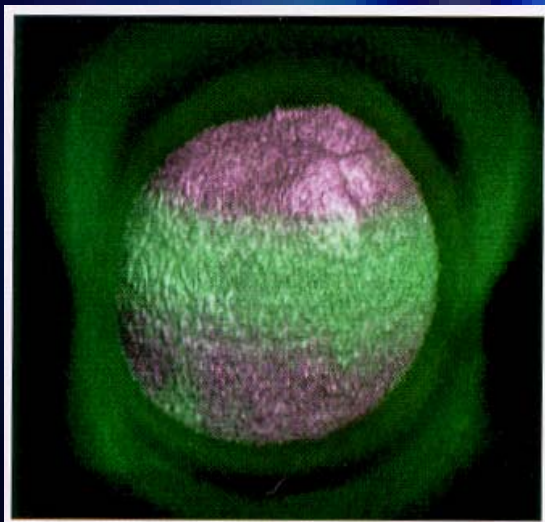
# Effet des faibles doses

- **AVANT:**
  - aucun effet détectable dans une cellule irradiée à un niveau d'exposition de l'ordre d'un mSv,
- **AUJOURD 'HUI:**
  - possibilités offertes par l'analyse des transcrits (ARN) et du protéome montrent, même dans ce cas, des modifications détectables.
  - modifications signalées aux cellules voisines et susceptibles de conduire à la mort, notamment par apoptose, les cellules exposées et leurs voisines.
- **Cependant il n'a pas été mis en évidence, à ce niveau d'exposition, d'augmentation de la mutagenèse.**
  - Le débit de dose paraît un élément déterminant pour ces réactions

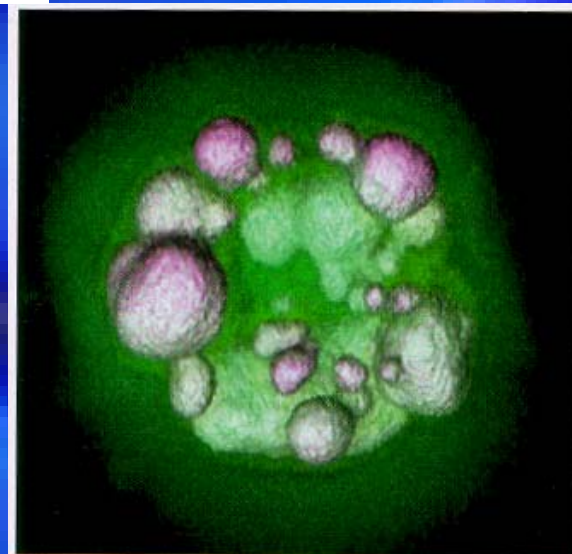
# Rôle des systèmes de détection des lésions cellulaires

- AUJOURD 'HUI: la cellule réagit à de très faibles doses d'irradiation,
  - en stimulant des mécanismes de défense (capteurs de radicaux et antioxydants (SOD, catalase, glutathion..), déméthylase et processus de réparation)
  - et éventuellement en induisant une apoptose de cellules dont l'ADN a été endommagé.

- Chromosomes uniformément distribué



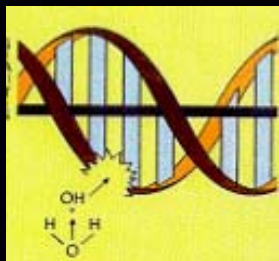
- Chromosomes et noyau fragmentés et rétracté



# Les conséquences

- la létalité par unité de dose varie considérablement [Joiner 2001],
  - elle est élevée à faible dose, dose inférieure à quelques centaines de mGy, puis diminue considérablement avant d'augmenter fortement au delà d'environ 2 Gy.
- La létalité, à faible dose,
  - est surtout liée à des mécanismes du type apoptose
  - dépend également de la **gestion des espèces réactives de l'oxygène** radio-induites.

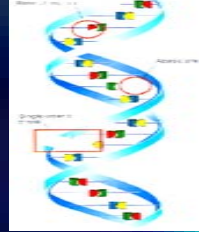
# Stress oxydatif et système de signalisation



- Radiolyse de l'eau secondaire à l'irradiation:
  - création de radicaux fortement oxydants provoque un “ **stress oxydatif** ”
    - endommagement certains constituants cellulaires,
    - déclenche la synthèse de molécules anti-oxydantes et d'enzymes détruisant ces radicaux.
    - provoque en outre la transcription de nombreux gènes impliqués dans la **signalisation cellulaire**.
    - **Au niveau du noyau, des niveaux d'irradiation différents conduisent à l'activation de familles de gènes différentes**
- Dans les cellules, différents **systèmes de signalisation** sont activés après la traversée d'un électron selon le site cellulaire touché :
  - cytosol (MAP kinases),
  - mitochondrie,
  - noyau (protéines kinases ATM).







Lésion ADN

Protéines signalisation

Phosphokinases

Protéines

Contrôle du  
cycle cellulaire

Apoptose

Réparation ADN





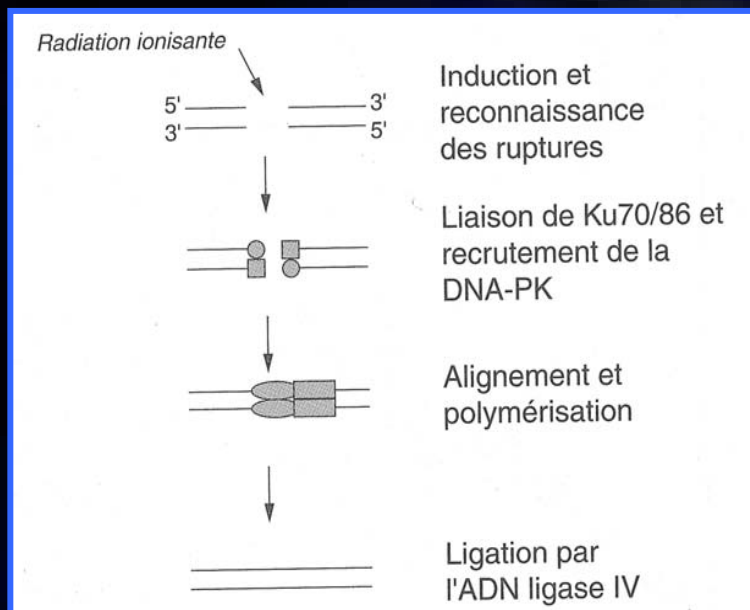
# Instabilité génétique

- Il a été montré *in vitro* et *in vivo* que la descendance de 10% environ des cellules irradiées présentait une fréquence anormalement élevée de modifications du génome
- **Accélération du taux de mutations de manière transitoire** conduit à la notion de phénotype mutateur conféré à la cellule précancéreuse : **instabilité chromosomique, mutations et amplification de gènes**

**Perte de système de régulation de l'homéostasie du génome**

- le taux de mutation est stabilisé pendant les périodes de prolifération
- pendant les phases quiescentes s'accumuleraient les mutations.

# Cible de l'instabilité génétique



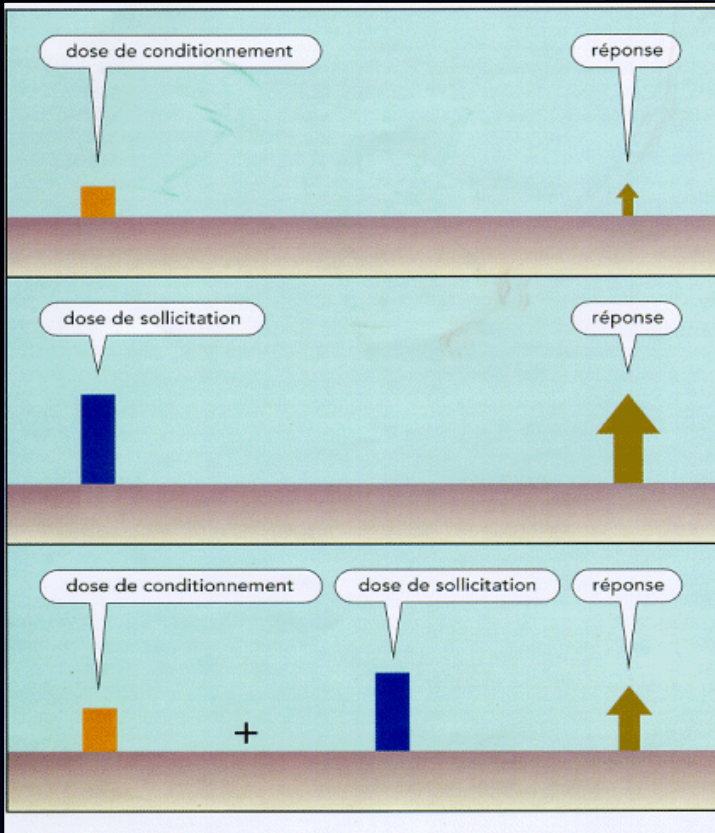
- Rôle de DNA-PKcs (DSB repair) sur les télomères.
  - Fusion des télomères sur les cellules DNA-PKcs déficientes (Gilley et al, 2001)
  - Si perte des télomères, transmission de l'instabilité sur cellules cancéreuse (Fouladi et al., 2000)

- Perte du passage en sénescences ? Taille des Télomères
- Rôle des altérations de p53 et Rb1 (Harms et al., 1998)
- Rôle du stress oxydatif ? (Redpath et al., 2001)
- Rôle des radicaux libre et ions superoxydes (Narayanan et al., 1997) ?
  - L'instabilité génomique est réduite par les « mangeurs » de radicaux libre (Limoli et al, 2001)

# Instabilité génomique

- Dose et instabilité ?
  - Une instabilité peut être induite par irradiation de cellules par une seule particule alpha (microbeam) (Kadhim et al, 2001) et peut être saturée à plus haute dose.
  - Instabilité transmissible de cell. irradiées à leurs descendants non irradiées (Kadhim et al, 2001)

# Exemple de défense : la réponse adaptative



- Cet effet protecteur est le fruit de l'induction de systèmes de défense et de réparation.

# La réponse adaptative

- Exposition à de très faible dose (10 mGy) rend les cellules plus résistantes à une deuxième dose plus importante.
    - Une première dose de 10 mGy augmente la radiorésistance des cellules bystander (Iyer et lehnert, 2002)
- ➔ diminution de la fréquence de transformation spontanée des cellules (pour de très faibles doses 0.1cGy)

- **Rôle de la réparation de l'ADN et de la stimulation du système enzymatique dans la réponse adaptative (Mothersill, 2002)**

- Effet bénéfique (Calabrese 2002, 2003)
  - stimule la croissance, réplication d 'ADN
  - MAP kinase
  - Facteurs de transcription (ex NF $\kappa$ B) activent certains gènes
  - réponse immunitaire renforcée

# Réponse cellulaire et dose

- A faible dose et faible débit de dose de rayonnements ionisants l'effet pro-apoptotique est dominant et le petit nombre de cellules altérées peuvent être éliminées ou contrôlées ;
  - QQ mGy: peu de signalisation cellulaire, cellules naïves
  - les cellules lésées :
    - sont éliminées : **Mort cellulaire (Hypersensibilité à très faible dose)** par apoptose ou par d'autres mécanismes de mort cellulaire
      - Cette hypermortalité ne s'accompagne pas d'une augmentation de la fréquence des mutations [Joiner 2001],
    - ou **réparées quand c'est possible (CSB par exemple)** par des mécanismes fidèles.

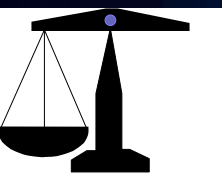


# Tranche de doses

- 10zaines mGy
  - batterie de genes activés (jusqu 'à 500mGy)
  - meilleurs gestion des lésions de l 'ADN (réponse adaptative)
  - Communication intercellulaire (bystander) destiné à éliminer les cellules voisines (instabilité génétique induite) et à solliciter les cellules de remplacement dans le tissu

## Tranche de doses (2)

- Au delà de 100 mGy environ
  - 1. le nombre de cellules lésées augmente
  - 2. des systèmes de réparation de l'ADN destinés à sauvegarder l'organisation des tissus sont induits avec, de ce fait un risque de réparation fautive.
  - 3. prolifération des cellules survivantes pour compenser la disparition d'une proportion importante de cellules
    - certaines cellules échappent à ces processus de maintien de l'intégrité tissulaire et au contrôle de la prolifération.
- la cancérogénicité d'une irradiation croit plus vite que la dose,
  - Quand la réparation prédomine, le risque de cancérisation augmente.
  - Alors que quand l'apoptose prédomine, le risque de cancérisation est faible, mais le tissu s'appauvrit en cellules (accélération du rythme de vieillissement).



# Pour en savoir plus....

- Rapport Académie des Sciences - Académie nationale de Médecine
- **LA RELATION DOSE-EFFET ET L'ESTIMATION DES EFFETS DES FAIBLES DOSES DE RAYONNEMENTS IONISANTS**

- André AURENGO (Rapporteur),
- Dietrich AVERBECK,
- André BONNIN,
- Bernard LE GUEN,
- Roland MASSE,
- Roger MONIER,
- Maurice TUBIANA (Président),
- Alain-Jacques VALLERON,
- Florent de VATHAIRE.

