

DE LA RECHERCHE À L'INDUSTRIE



•19 MArS 2013

# Variabilité de la radiosensibilité individuelle

S Chevillard

Société Française de Radioprotection | Annette Schmitz

[www.cea.fr](http://www.cea.fr)

# Variabilité de la radiosensibilité individuelle

**Radiosensibilité individuelle..... tissus sains/cancers**

**Radiosensibilité individuelle ?**

- **Les effets secondaires de la radiothérapie.... Effets objectivés**
  - **brulures**
  - **fibrose**
  - **seconds cancers**

**Constitution des groupes, facteurs confondants, taille des cohortes**

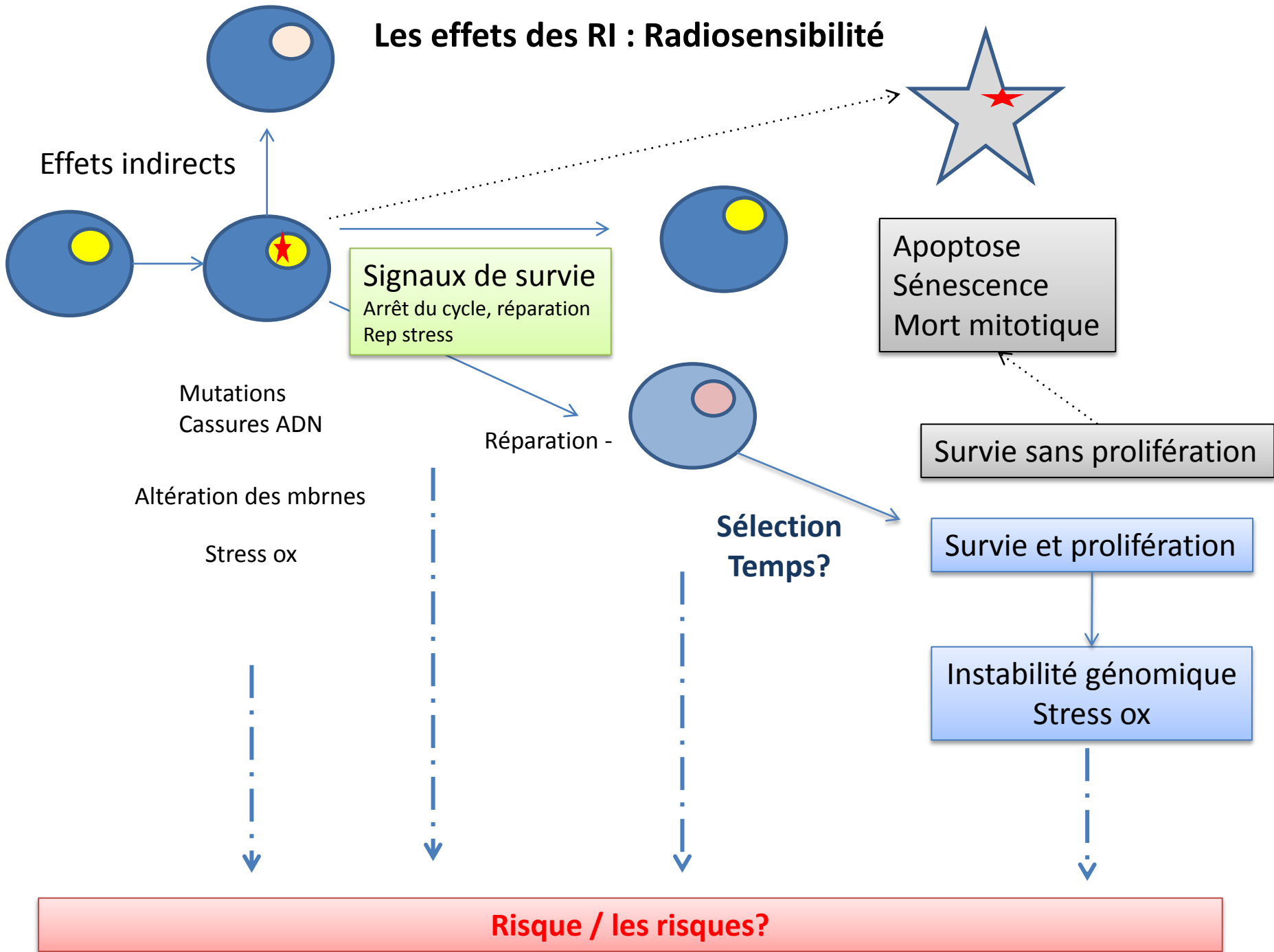
**Et quels tests, quelles cellules, quelles doses, débits de doses, quels temps.....**

**La radiosensibilité individuelle doit-elle être reliée à un risque?**

- **réponses cellulaires in vitro utilisant des tests qui permettent de « voir » des différences inter-individuelles.....**
- **Si oui, comment faire aux faibles doses, puisqu'on ne sait pas objectiver de risques?**

**Quels tests, quelles cellules, quelles doses, débits de doses, quels temps.....**

# Les effets des RI : Radiosensibilité



# Radiosensibilité individuelle

homme

tissulaires

cellulaires

Les mécanismes?

Effets directs

Quels phénotypes

Effets indirects

Quels tests

Quelles cellules?

génétique

Quelles doses et débits de dose?

Quels temps?

épigénétique

Avant irradiation

précoce

tardif

Induction

Sélection

**Quelles cellules?**

**Quels tests?**

**Quelles doses?**

# Lymphocytes / fibroblastes

Cassures d'ADN dble brin (électrophorèse en champ pulsé) sur lymphocytes et fibroblastes normaux d'un même individu

Donneurs sains

- Inter-individuelle variation pour la mesure des cassures dsb (1-5 dsb/Gy).
- **corrélation linéaire entre les dommages des lymphocytes et des fibroblastes** d'un même patient (slope = 0.83;  $r = 0.694$ ;  $p = 0.0001$ ) *Núñez MI, Int J Cancer. 1998*

Cassures de l'ADN (test comète) sur fibroblastes et lymphocytes et test de clonogénicité sur fibroblastes

Patientes atteintes de cancer du sein, réponses aiguës au niveau de la peau suite à l'irradiation.

- **bonne corrélation test des comètes sur lymphocytes avec la réaction clinique**
- **aucune corrélation entre clonogénicité et cassures avec réaction peau sur fibroblastes.** *Oppitz U, Int J Radiat Biol 2002*

# Lymphocytes / fibroblastes

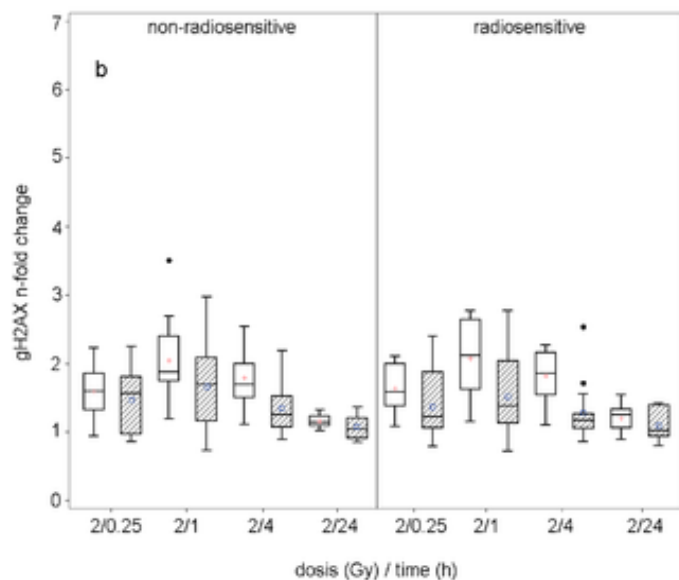
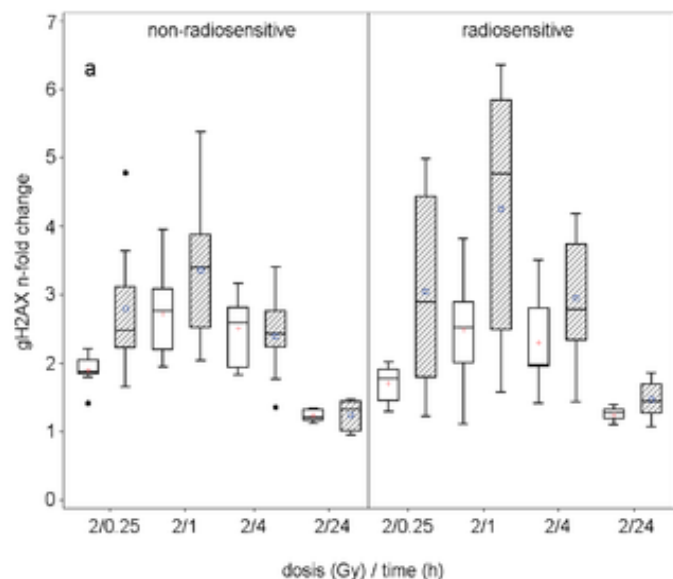
Patients avec réaction tardive grade grade 3 sans mutations AT, NBS, MRE11 or RAD50

- **pas de relation avec survie et réparation des cassures db sur fibroblastes**
- **relation entre dommages chromosomiques sur les lymphocytes irradiés à 6 Gy**

[Radiotherapy and Oncology](#) 2002, [Borgmann](#) K

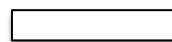
**Corrélation observée entre fibroblastes et radiosensibilité de la tumeur ( $r=0.57$ ,  $p=0.03$ ),  
par contre relation inverse entre lymphocytes et réponse de la tumeur ( $r= -0.32$ ,  $p=0.03$ ).**

[West CM Int J Radiat Biol.](#) 1998



### Comparaison inter-laboratoires

centre C



centre B



clinical radiosensitivity /resistance no clear phenotypic correlation, neither for the PBLs nor for the LCLs in either laboratory

a higher variation of the  $\gamma$ H2AX induction values in the PBLs of the radiosensitive cohort compared to the non-radiosensitive one was found in laboratory B

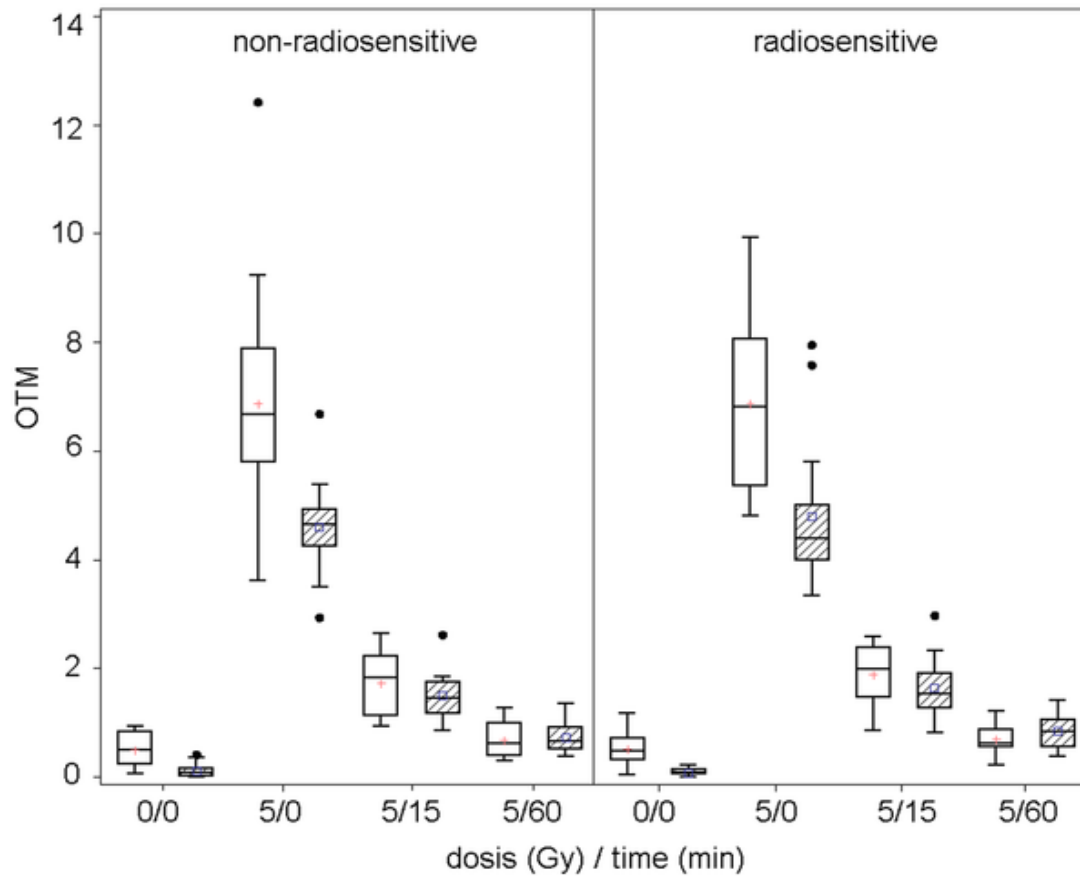
LCLs showed less overall IR-induced H2AX phosphorylation than the corresponding PBLs

LCLs displayed a highly variable induction of H2AX shortly after irradiation followed by a rather complete repair at 24 h in all samples.

corresponding EBV-immortalized



# Dose-response relationship of Olive tail moment (OTM) in PBLs at different time points.



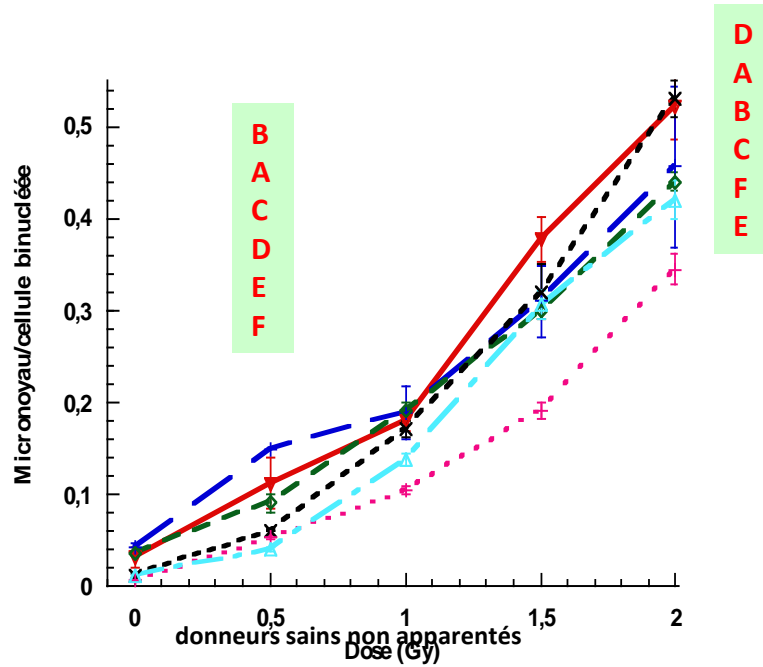
Comet assay of both laboratories revealed similar results by investigating OTM in PBLs directly after 5 Gy and at different time points.

Non-radiosensitive and radiosensitive individuals were not distinguishable

**Pb**  
**head and neck**  
**Cancer du sein**

# Quelles doses?

## Variabilité inter- et intra-individuelle de radiosensibilité



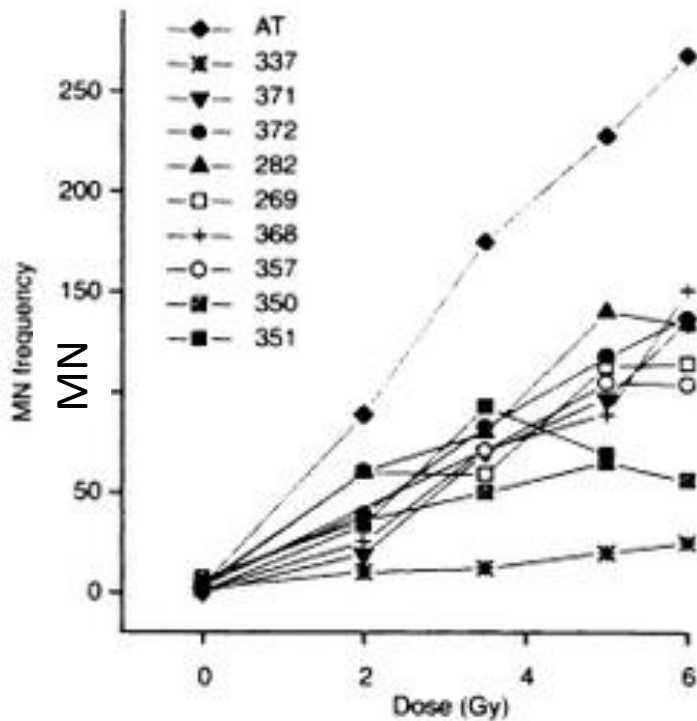
# Quelles doses, quels tests?

Br J Cancer. 1998 December; 78(12): 1559-1563.

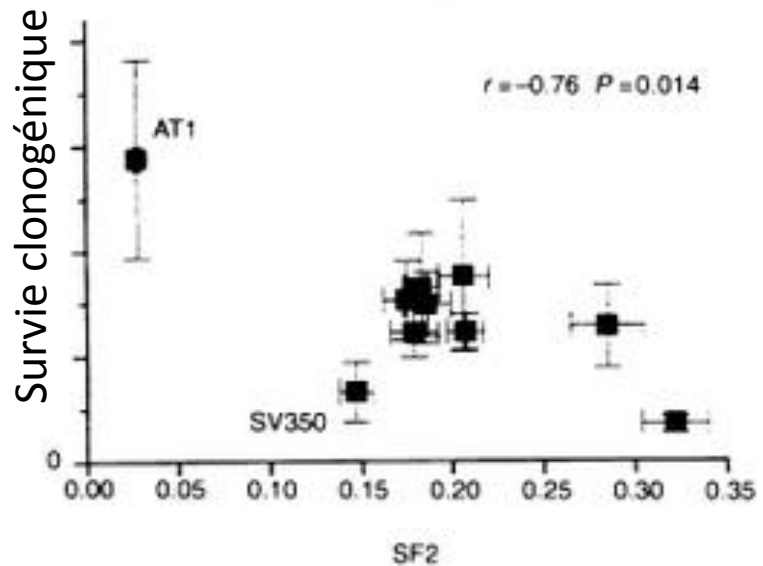
PMCID: PMC2063244

## Radiation-induced micronuclei in human fibroblasts in relation to clonogenic radiosensitivity.

[M. C. O'Driscoll](#), [D. Scott](#), [C. J. Orton](#), [A. E. Kiltie](#), [S. E. Davidson](#), [R. D. Hunter](#), and [C. M. West](#)



Fibroblastes de donneurs sains 72h après irradiation



Survie clonogénique

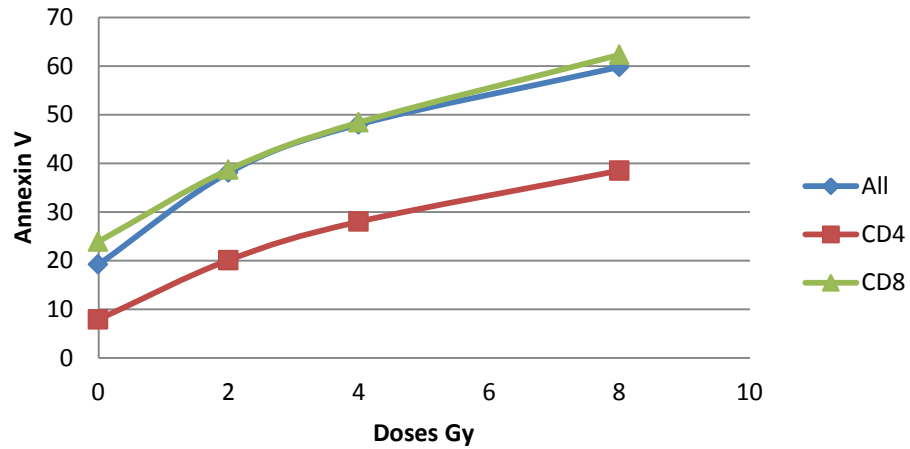
# Quels tests?

Test d'apoptose

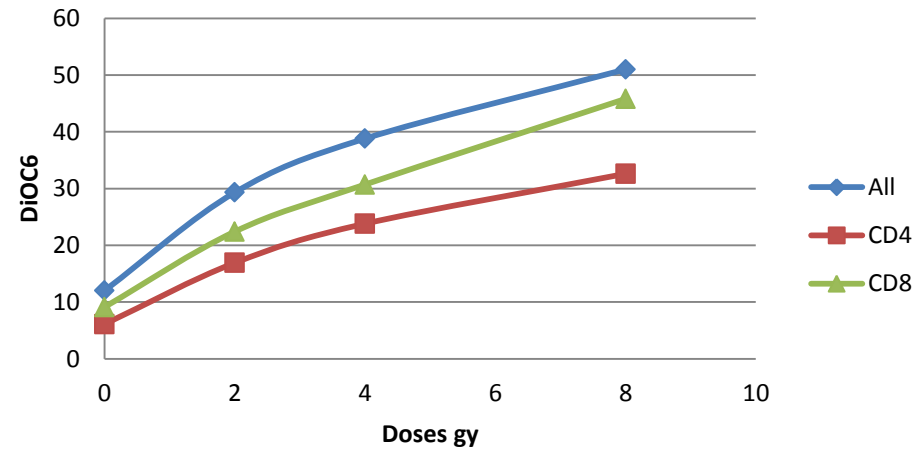
Lymphocytes de donneurs sains (n = 54) irradiés ex-vivo

Total, CD4,CD8

## Radiosensitivity



## Radiosensitivity

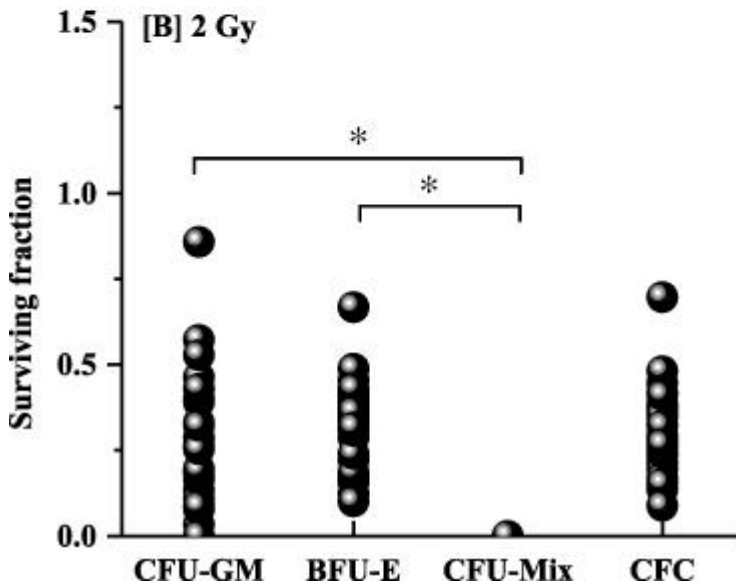
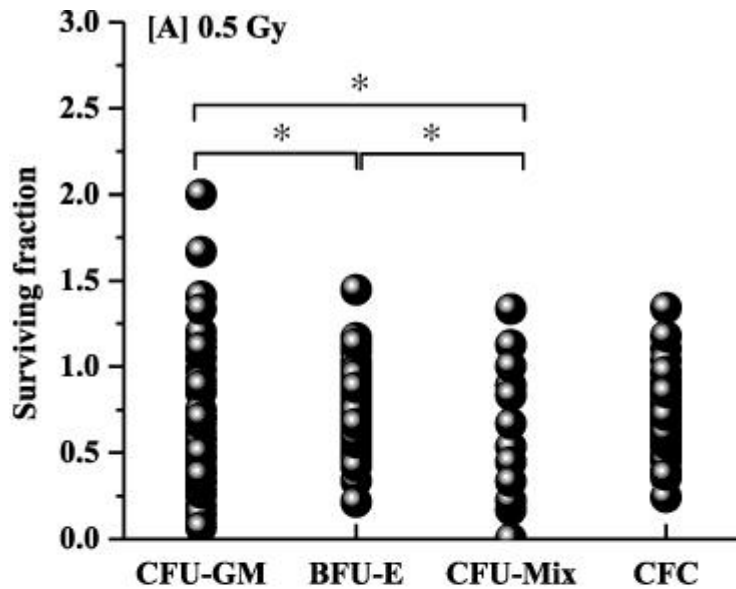


Dose Response. 2007 [Schnarr,K](#)

## Quelles cellules et quelles doses?

Radiosensibilité de la lignée myéloïde adulte

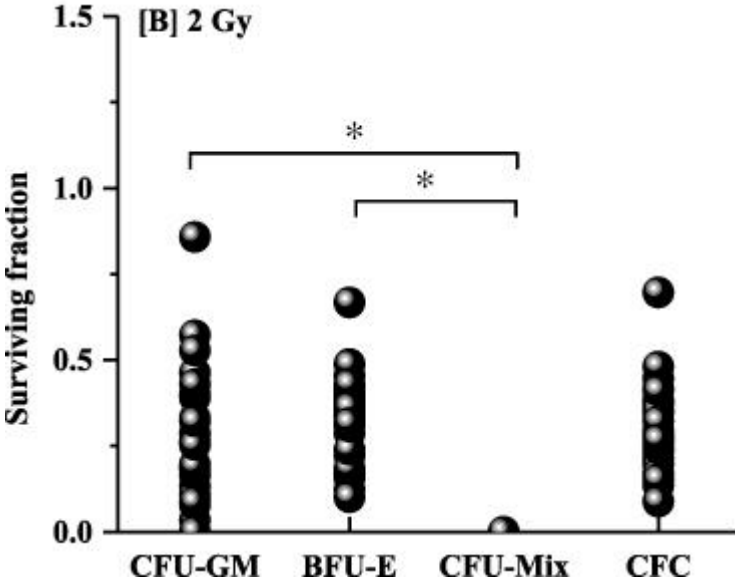
colony-forming unit–**granulocyte macrophage**,  
burst-forming unit–**erythroid**  
colony-forming unit–**granulocyte–erythroid–**  
**macrophage–megakaryocyte**



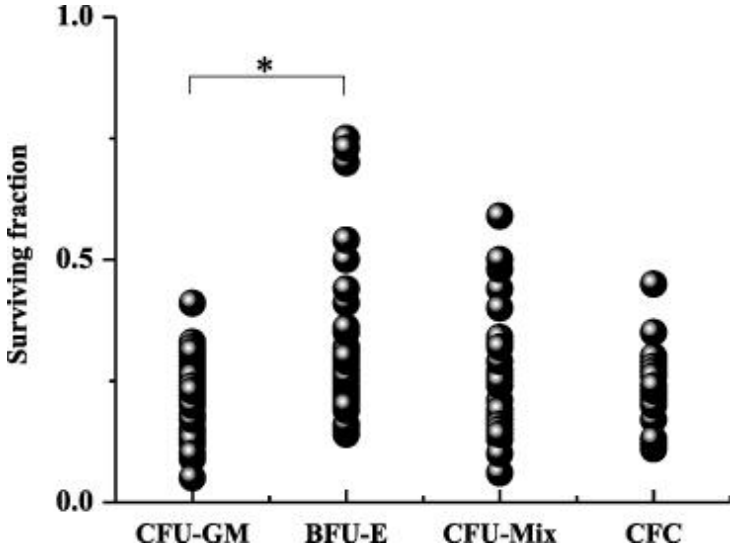
The PB of 59 healthy individual blood donors were exposed to 0.5 or 2 Gy x-irradiation.

# Quelles cellules?

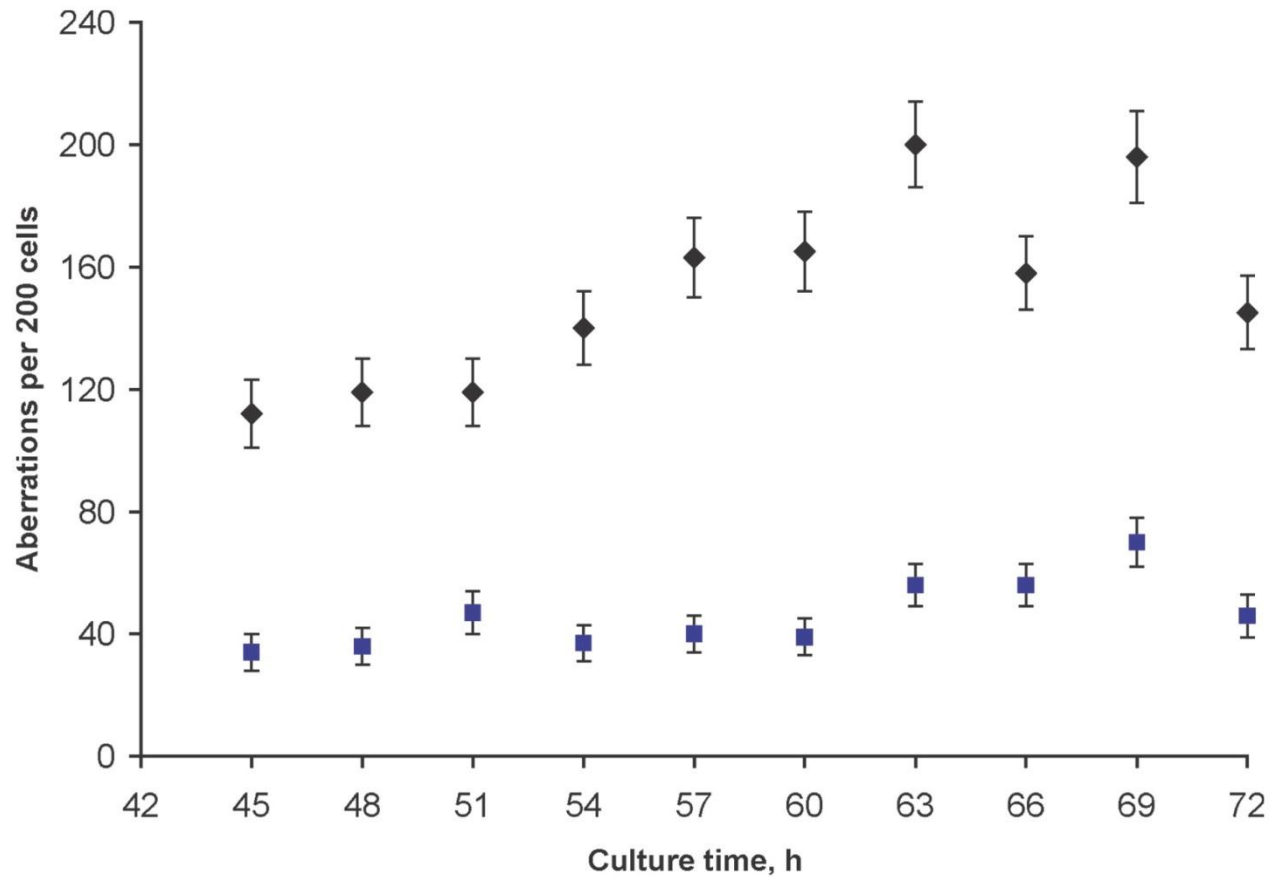
### Radiosensitivity of HSPCs in 59 adults



### Radiosensitivity of HSPCs in 42 CB (fetus PB)



Kato K, 2013, J. Radiol. Prot.



The frequency variations with culture time of full genome dicentrics (◆) and translocations involving chromosomes 2, 3 and 5 (■) in 200 M1 cells irradiated with 3 Gy.

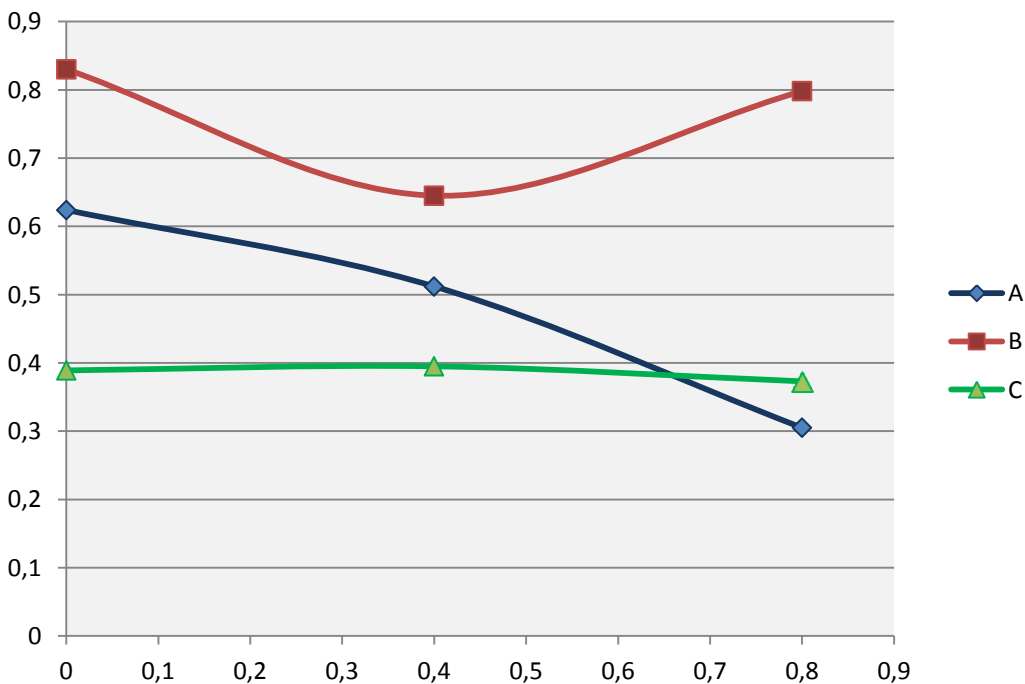
Hone PA, Int. J. Radiat. Biol 2005

**Table 3. Comparison between non-radiosensitive vs. radiosensitive patients for apoptosis and necrosis in each laboratory within the different dose rates.**

Apoptosis/ Necrosis	Non-radiosensitive vs. radiosensitive		
Dose (Gy)	0.0	0.4	0.8
Centre A	0.624	0.512	0.305
Centre B	0.830	0.645	0.798
Centre C	0.389	0.395	0.373

P values were determined by Mann-Whitney U test. The differences were statistically not relevant as indicated by the high p values >0.05.

doi:10.1371/journal.pone.0047185.t003



**Absence de standardisation.....  
Intra-laboratoire  
Et donc inter-laboratoires!!!!**

Greve B, Bölling T, Amler S, Rössler U, et al. (2012) Evaluation of Different Biomarkers to Predict Individual Radiosensitivity in an Inter-Laboratory Comparison—Lessons for Future Studies. PLoS ONE 7(10): e47185. doi:10.1371/journal.pone.0047185  
<http://www.plosone.org/article/info:doi/10.1371/journal.pone.0047185>



## **The poor success of past attempts to predict risk of radiotherapy toxicity is due to lack of standardization of assays and poor study designs**

- (1) the lack of standardized and reliable approaches for measuring radiosensitivity;
- (2) poor study design with often inadequate patient numbers;
- (3) many studies not accounting for known/potential risk factors in multivariate analysis;
- (4) many confounding factors
- (5) and lack of replication

**Individuals vary in radiosensitivity, radiosensitivity is a genetic trait and assessing genotype will be more reliable than cell based assays!!!**

Greve B, Bölling T, Amler S, Rössler U, et al. (2012) Evaluation of Different Biomarkers to Predict Individual Radiosensitivity in an Inter-Laboratory Comparison—Lessons for Future Studies. PLoS ONE 7(10): e47185. doi:10.1371/journal.pone.0047185  
<http://www.plosone.org/article/info:doi/10.1371/journal.pone.0047185>

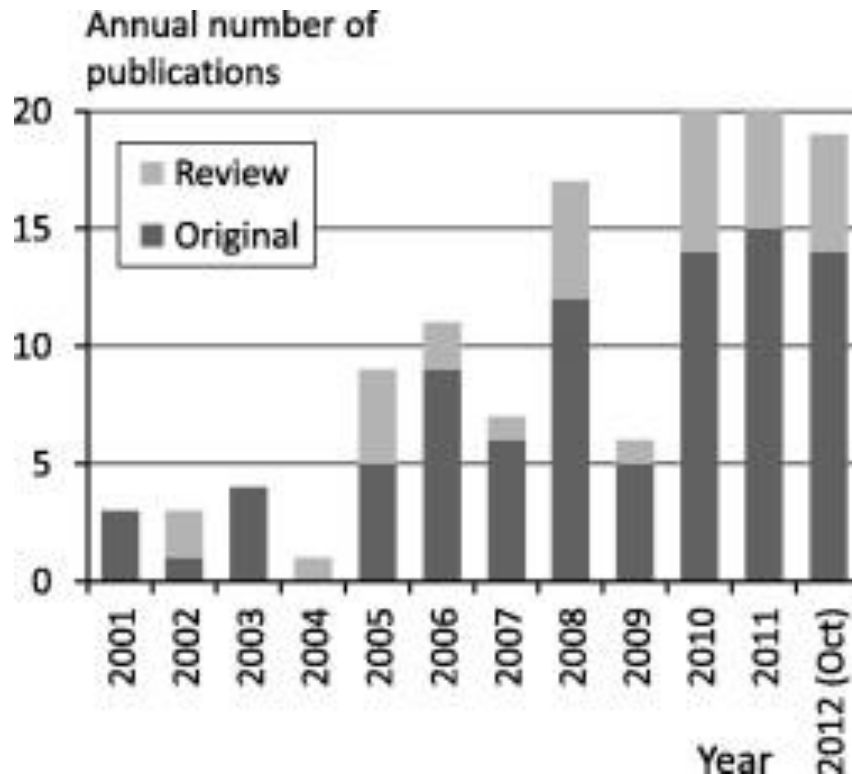
## La génétique de la radiosensibilité

mutations, SNPs, copy number variations (CNVs), épigénétique.

- Radiosensibilité mutations rares avec un effet “fort”  
ataxia-télangiectasia (ATM),  
Nijmegen breakage syndrome (NBS1),  
Bloom’s syndrome  
mutations in hMRE11 [29] and ligase IV
- Rares NPs avec effets intermédiaires
- SNPs communs avec faibles effets
- Autres types de variations.....

11 millions de SNPs!

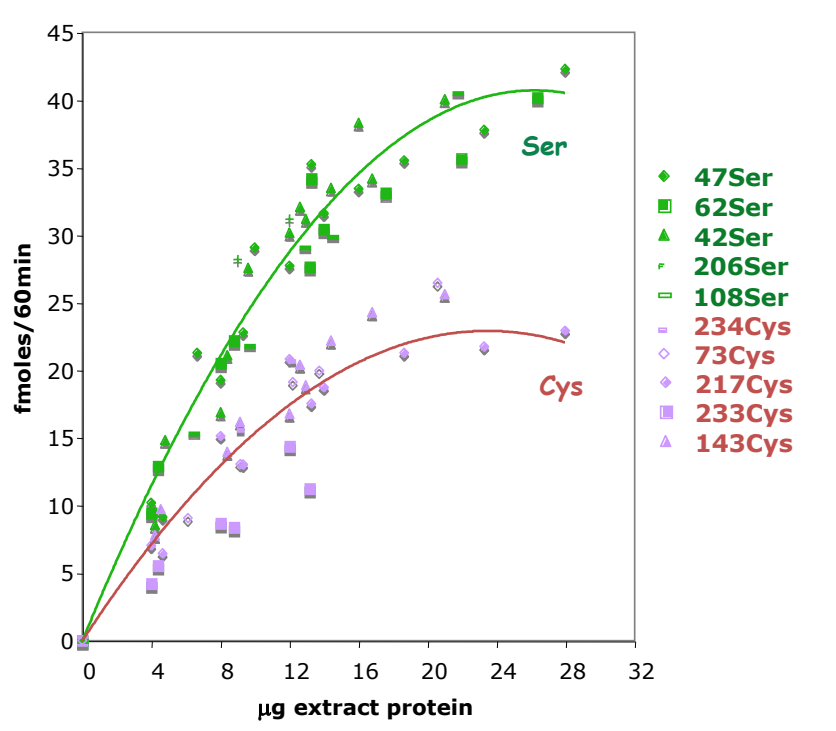
# SNP pour prédire la radiosensibilité individuelle



Approches ciblées  
~700 loci ayant potentiellement  
un impact faible sur la  
radiosensibilité  
Expliquerait 20% de la variabilité

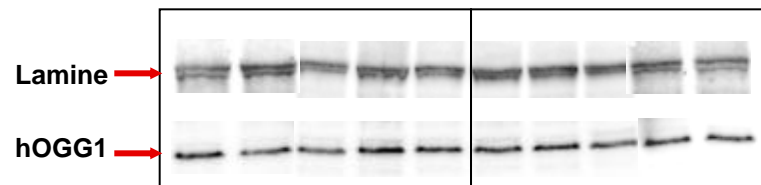
Medline : “radiotherapy’ and ‘polymorphisms”

# Basal levels of 8-oxoG DNA glycosylase activity are 2-fold lower for the Cys/Cys cell extracts



8oxo-G Glycosylase (fmoles cleaved/ $\mu$ g prot/hr)

Ser326		Cys326	
47Ser	2,6	217Cys	1,5
62Ser	2,53	233Cys	1,07
42Ser	2,52	143Cys	1,55
206Ser	2,87	234Cys	1,73
108Ser	2,3	73Cys	1,4
<b>average</b>	<b>2,56</b>	<b>average</b>	<b>1,45</b>
SD	0,20	SD	0,24



*hOGG1*Ser326      *hOGG1*Cys326

But same mRNA and protein levels

OGG1 Ser326Cys polymorphism and the risk of cancer,

Controversé taille des échantillons

[Toxicol Ind Health.](#) 2012

# La décennie de recherche sur les SNPs

Seules quelques études comportent plus de 500 personnes  
2/3 des études trouvent une association (faible à moyenne)  
1/3 aucune association

80 gènes candidats SNPs associés risque de complications à la suite de radiothérapie.

Le *TGFB1* (509 SNP) le plus étudié, il permet d'illustrer le problème majeur  
Nombreuses études sur petite cohortes montrent une association entre SNP and et de toxicité secondaire  
Une grande étude regroupant 778 personnes ne confirme pas ces résultats (Barnett GC, Radiother Oncol, 97 2010)

Une étude SNP sur :

**2000 patients a une probabilité de 96% d'identifier un SNP qui serait présent dans 30% d'une population qui aurait un risque d de 1,3**

**Par contre, une étude sur 10,000 personnes a une probabilité de 22% d'identifier un effet de de même ampleur qui serait présent dans 5% de la population**

De plus certaines études recherche des associations sur plusieurs SNPs pour un même endpoint sachant que si on étudie 7 marqueurs, par exemple, il y a une probabilité de plus de 65% de trouver une association par chance avec une significativité de 5%

**Les études SNPs doivent porter sur des cohortes de plus de 1000 personnes!**

**Validation indépendante capitale**

**Série test puis validation**

**Tenir compte des facteurs confondants**

**A convincing association between a SNP near the *TNF* gene and risk of radiation-induced toxicity. collaborative research network included 2036 patients divided into a test set and several independent validation sets! Talbot CJ, Br J Cancer, 107 (2012), pp. 748–753**

**Consequently, it might be worth considering a return to predictive assay research based on phenotype rather than genotype.**

[Andreassen](#) CN, Radiothr Oncol 2012