IRSN
INSTITUT
DE RADIOPROTECTION
ET DE SÛRETÉ NUCLÉAIRE

Faire avancer la sûreté nucléaire

SFRP
Société Française de Radioprotection

EDF

Intérêt d'implémentation de mesures multiparamétriques radio-biologiques pour mieux prédire les risques de complications aux tissus sains après radiothérapie

12ème congrès national de la SFRP
Mercredi 19 juin 2019

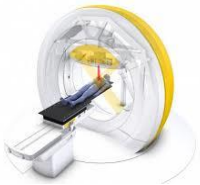
Mariam Ben Kacem

Laboratoire de Radiobiologie des expositions Médicales (LRMed)
Tuteur de thèse : Vincent Paget
Directeur de thèse : Fabien Milliat

MEMBRE DE
ETSON
EUROPEAN
TECHNICAL SAFETY
ORGANISATIONS
NETWORK

Contexte (1)

En France, environ 400 000 nouveaux cas de cancers par an



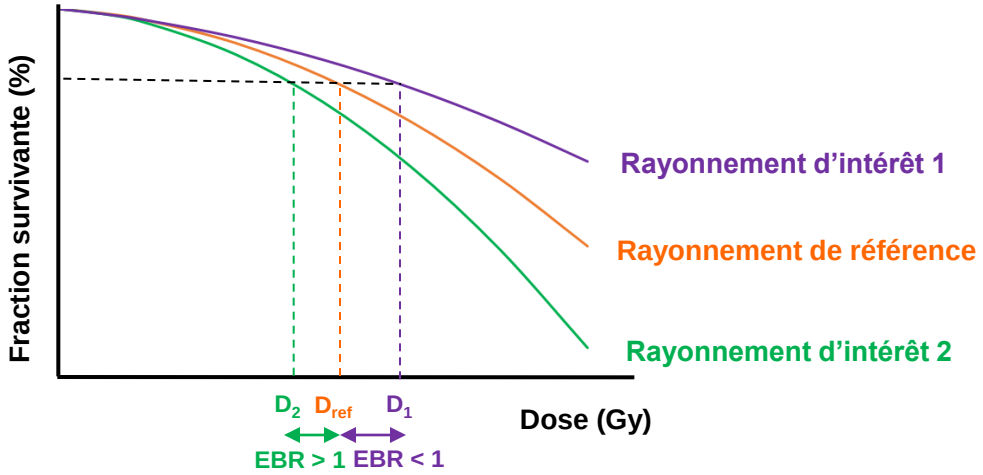
Chaque année, 200 000 patients bénéficient d'une **radiothérapie**

Evolution de la radiothérapie (amélioration balistique, nouveaux appareils et protocoles)

MAIS… Peu de connaissances sur les effets biologiques liés à ces nouvelles pratiques

- Mesure d'**EBR** (Efficacité Biologique Relative) pour évaluer le risque en radiobiologie

Test de clonogénicité (Puck and Marcus, 1956), « Gold standard »



$$EBR = \frac{\text{Dose (rayonnement de référence)}}{\text{Dose (rayonnement d'intérêt)}}$$

- Limites du **Test de clonogénicité** pour la prédiction du risque

Contexte (2)

Risque de complications suite à une radiothérapie

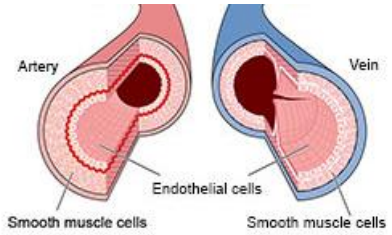
Inflammation — Nécrose — Remodelage tissulaire — Fibrose — Pathologies vasculaires

Intérêt de mesures multiples pour la prédiction du risque

Dysfonction endothéliale radio-induite (et pathologies associées)
(F. Milliat *et al.*, Annales de cardiologie et d'angéiologie, 2008)

Modèle cellulaire : cellules endothéliales

- **HUVECs** (Human Umbilical Vein Endothelial Cells)
- **HMVEC-L** (Human Lung Microvascular Endothelial Cells)



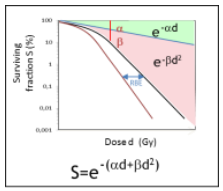
Intérêt de mesures d'EBR multiples pour la prédiction du risque

Variation du débit de dose

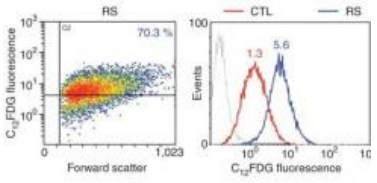
LINAC 4 MV
2 débits:
2,5 Gy/min
0,63 Gy/min

Mesures biologiques multiparamétriques (*in vitro*) → Modélisation de l'information biologique → Mesures biologiques (*in vivo*)

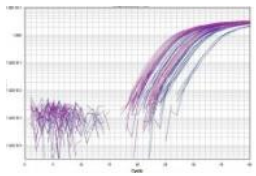
Test de survie clonogénique



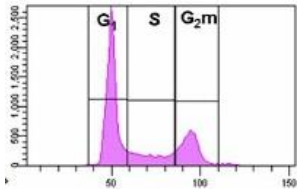
Sénescence



Expression génique



Cycle cellulaire



+ viabilité/mortalité cellulaire, paramètres inflammatoires …

Modélisation paramétrique → $f_i(x)$
(pour chaque mesure biologique i)

$$\sum \left[\text{« Gold standard »} + \left[f_{\text{expression génique}}(x) \; f_{\text{viabilité/mortalité}}(x) \; f_{\text{cycle cellulaire}}(x) \; f_{\text{sénescence}}(x) \; \ldots\ldots \right] \right]$$

En collaboration avec un mathématicien

Meilleure prédiction de l'effet biologique ?

Meilleure prédiction du risque ?

Modèle *in vitro* : HUVECs et HMVEC-L
Irradiation en dose unique
Temps précoces (J3), intermédiaires (J7) et tardifs (J21)

Anse intestinale extériorisée (19 Gy)

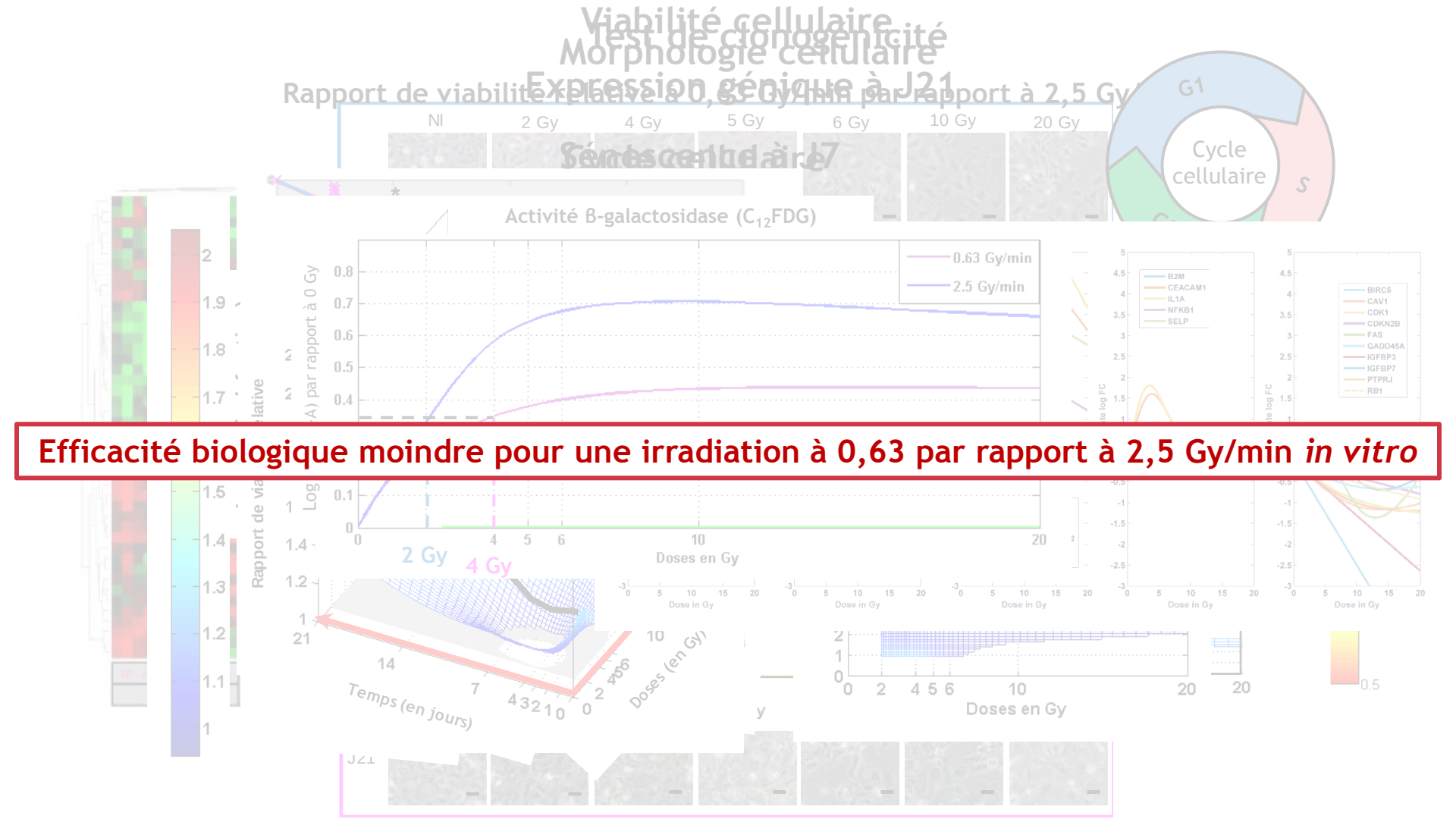
Temps précoces (1s) et tardifs (6s)

Modèle murin *in vivo* : souris C57BL6

Variation du débit de dose

1. Modèle cellulaire : HUVECs

LINAC (tension 4 MV)
2,5 Gy/min (rayonnement de référence)
0,63 Gy/min (rayonnement d'intérêt)



Efficacité biologique moindre pour une irradiation à 0,63 par rapport à 2,5 Gy/min *in vitro*

Intérêt de mesures d'EBR multiples pour la prédiction du risque

Variation du débit de dose

LINAC 4 MV
2 débits:
2,5 Gy/min
0,63 Gy/min

Mesures biologiques multiparamétriques (*in vitro*) → Modélisation de l'information biologique → Mesures biologiques (*in vivo*)

Test de survie clonogénique

Sénescence

Expression génique

Cycle cellulaire

+ viabilité/mortalité cellulaire, paramètres inflammatoires …

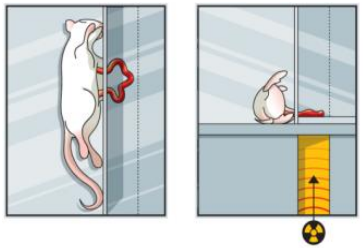
Modèle *in vitro* : HUVECs et HMVEC-L
Irradiation en dose unique
Temps précoces (J3), intermédiaires (J7) et tardifs (J21)

Modélisation paramétrique → $f_i(x)$
(pour chaque mesure biologique i)

$$\sum \left[\text{« Gold standard »} + \left[f_{\text{expression génique}}(x) \; f_{\text{viabilité/mortalité}}(x) \; f_{\text{cycle cellulaire}}(x) \; f_{\text{sénescence}}(x) \; \ldots\ldots \right] \right]$$

En collaboration avec un mathématicien

Anse intestinale extériorisée (19 Gy)



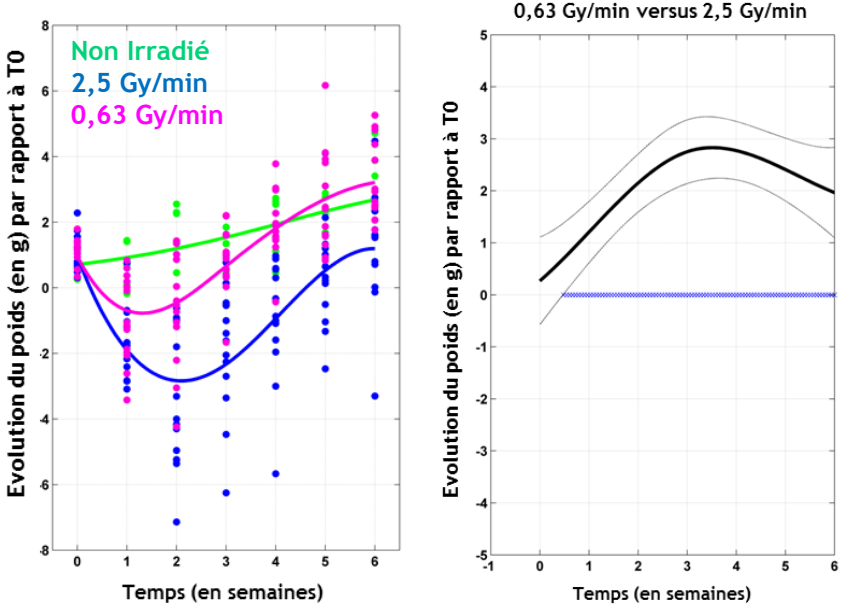
Temps précoces (1s) et tardifs (6s)

Modèle murin *in vivo* : souris C57BL6

Variation du débit de dose

2. Modèle animal

Variation du poids



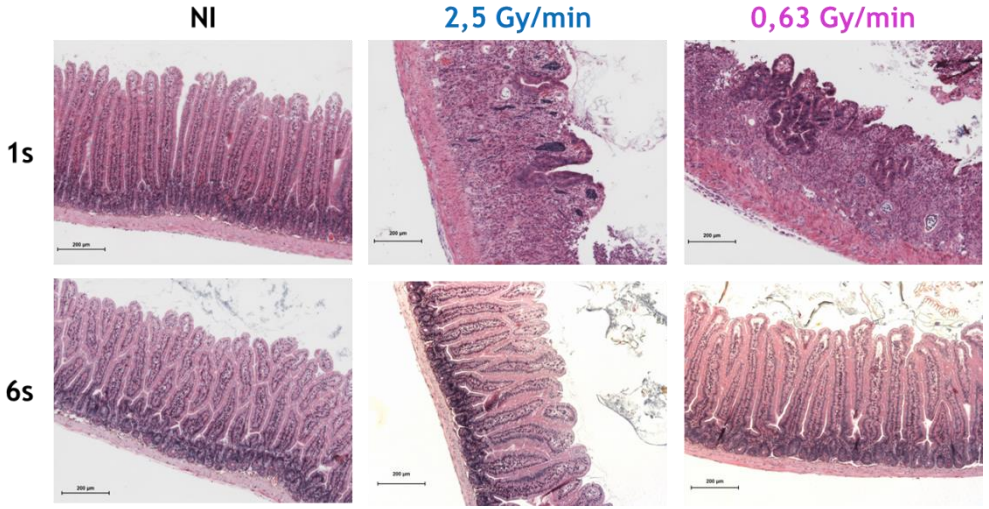
« EBR » < 1

Une perte de poids moins importante à 0,63 qu'à 2,5 Gy/min

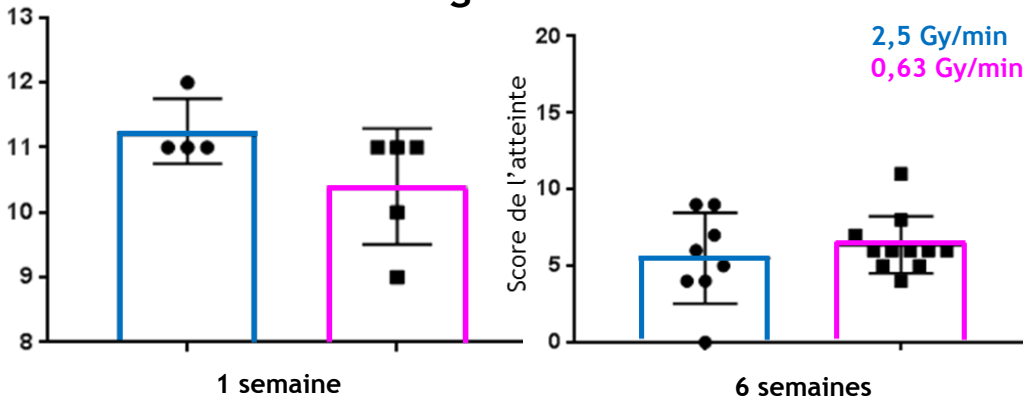
Pas de différences histologiques

Fonctionnalité du tissu ?

Coloration de coupes histologiques (HES)



Scorring de la lésion

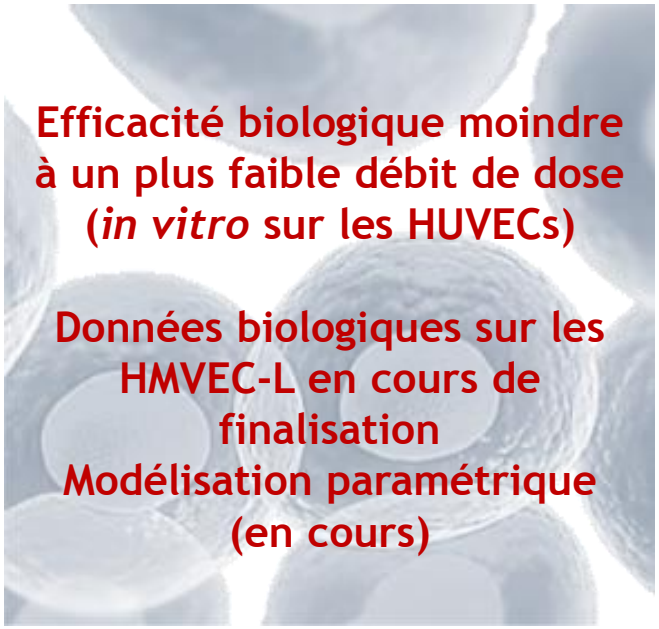


« EBR » ≈ 1

IRSN MEMBRE DE ETSON

Conclusion

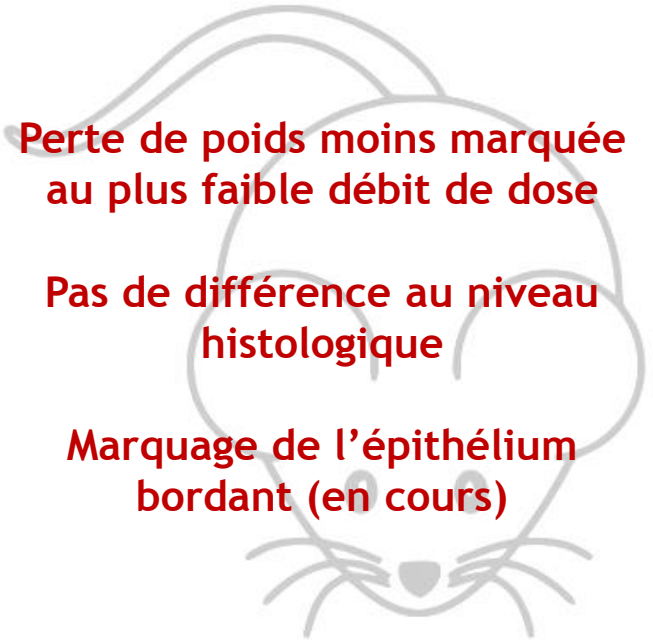
In vitro



Efficacité biologique moindre à un plus faible débit de dose (*in vitro* sur les HUVECs)

Données biologiques sur les HMVEC-L en cours de finalisation
Modélisation paramétrique (en cours)

In vivo



Perte de poids moins marquée au plus faible débit de dose

Pas de différence au niveau histologique

Marquage de l'épithélium bordant (en cours)

Modélisation globale (*in vitro* et *in vivo*)

Etudes fonctionnelles *in vivo* :
- **Échange au niveau de la barrière intestinale (chambre de Ussing)**

Perspectives

Intérêt de mesures d'EBR multiples pour la prédiction du risque

Axe 1
Variation du débit de dose

Efficacité biologique moindre à un plus faible débit de dose

Axe 2
Fractionnement de la dose

Le modèle de BED est-il adapté ?

Effets du débit et du fractionnement ?

Acquisition de données biologiques *in vitro* (HUVECs)

IRSN/SERAMED/LRMed

Fabien Milliat
Vincent Paget
Agnès François
Olivier Guipaud
Valérie Buard

Georges Tarlet
Christelle Demarquay
Claire Squiban
Noëlle Mathieu
Christine Linard

Alain Chapel
Alexandra Semont
Frédéric Soysouvanh
Alexia Lapière
Annaïg Bertho

Merci pour votre attention

UNIVERSITÉ PARIS DESCARTES

Lotfi Slimani
Jeremy Sadoine

IRSN/SERAMED/LRAcc
Morgane Dos Santos

IRSN/SERAMED/EC
Mohamedamine Benadjaoud

IRSN/SESANE/GSEA
Delphine Denais Lalième
Amandine Saché
Romain Granger

IRSN/SDOS/LDRI
Yoann Ristic
Miray Razanajatovo

Axe 2 : Fractionnement de la dose

LINAC
4 MV
2,5 Gy/min

➢ Acquisition de mesures biologiques multiparamétriques *in vitro*

Viabilité/mortalité cellulaire, sénescence, cycle cellulaire et expression génique

Temps intermédiaires (J7) et tardifs (J21)

Modèle *in vitro* : HUVECs

$$BED = n\,d\left[1 + \frac{d}{\alpha/\beta}\right]$$

BED : Dose Biologique Efficace
n : nombre de fraction
d : dose par fraction
α/β : radiosensibilité d'un tissu

	Protocoles d'irradiation	BED_3 (en Gy)
Dose totale équivalente (20 Gy)	1 x 20 Gy	153,33
	2 x 10 Gy	86,67
	4 x 5 Gy	53,33
	10 x 2 Gy	33,33
BED_3 équivalente (à 1 x 20 Gy)	3 x 11 Gy	154

➢ Modélisation de l'information biologique

Modélisation paramétrique → $f_i(x)$ (pour chaque mesure biologique i) (avril 2019)
Cinétique de BED en fonction du temps et du fractionnement

Modélisation globale

→ **Effet de la dose par fraction à dose totale équivalente ?**

Axe 2 : Fractionnement de la dose

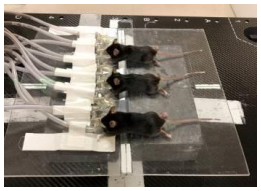
LINAC
4 MV
2,5 Gy/min

➢ Acquisition de mesures biologiques *in vivo*

Irradiation en thorax entier

Temps : 1 et 6 mois post-irradiation

Modèle murin *in vivo* : souris C57BL/6J



- Scans pulmonaire des souris
- Poids des souris sur 6 mois
- Poumon gauche coloré au X-gal } Scorring de la lésion
- Poumon droit (lobe supérieur) } et colorations
- Cœur coloré au X-gal
- Prélèvements sanguins → dosages (surfactant D, CCSP)
- Poumon droit (lobes inférieurs) → expression génique

$$BED = n\,d\left[1+\frac{d}{\alpha/\beta}\right]$$

	Protocole d'irradiation
BED_3 équivalente (≈ 154 Gy)	1 x 20 Gy
	3 x 11 Gy
	5 x 8,2 Gy
	22 x 3,3 Gy
BED_3 x 2 (≈ 308 Gy)	10 x 8,2 Gy

→ Vérifier le modèle de BED

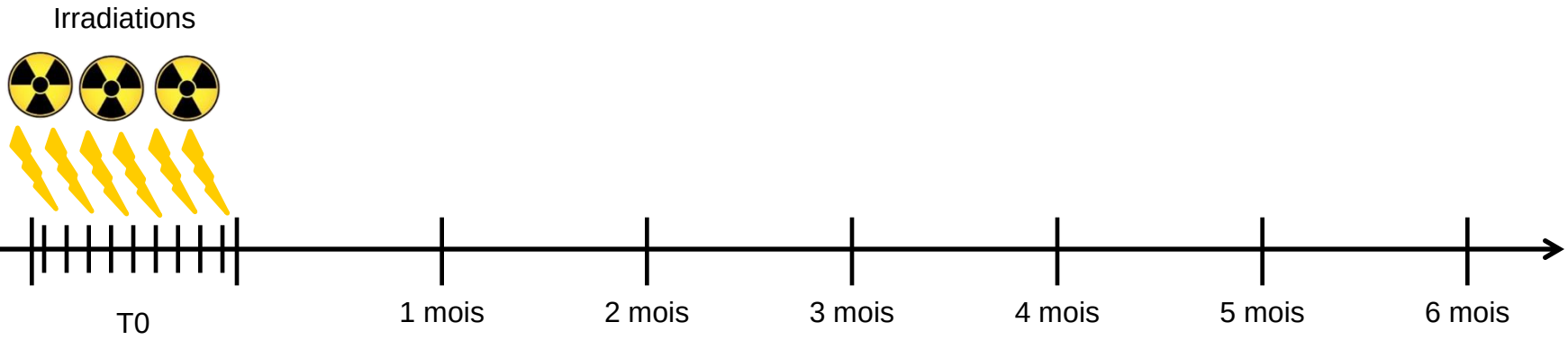
→ Effet de la dose par fraction à BED_3 équivalente ?

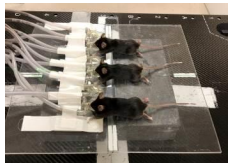
IRSN MEMBRE DE ETSON

Axe 2 : Fractionnement de la dose

LINAC
4 MV
2,5 Gy/min

- **Acquisition de mesures biologiques *in vivo***
  - **Méthodologie : irradiation du thorax entier**





Scan micro CT
Euthanasie
Prélèvements (sang, poumons, cœur)

Groupe 1 : 0 Gy (n = 12)
Groupe 2 : 1 x 20 Gy (n = 12)
Groupe 3 : 3 x 11 Gy (n = 12)
Groupe 4 : 5 x 8,2 Gy (n = 12)
Groupe 5 : 22 x 3,3 Gy (n = 12)

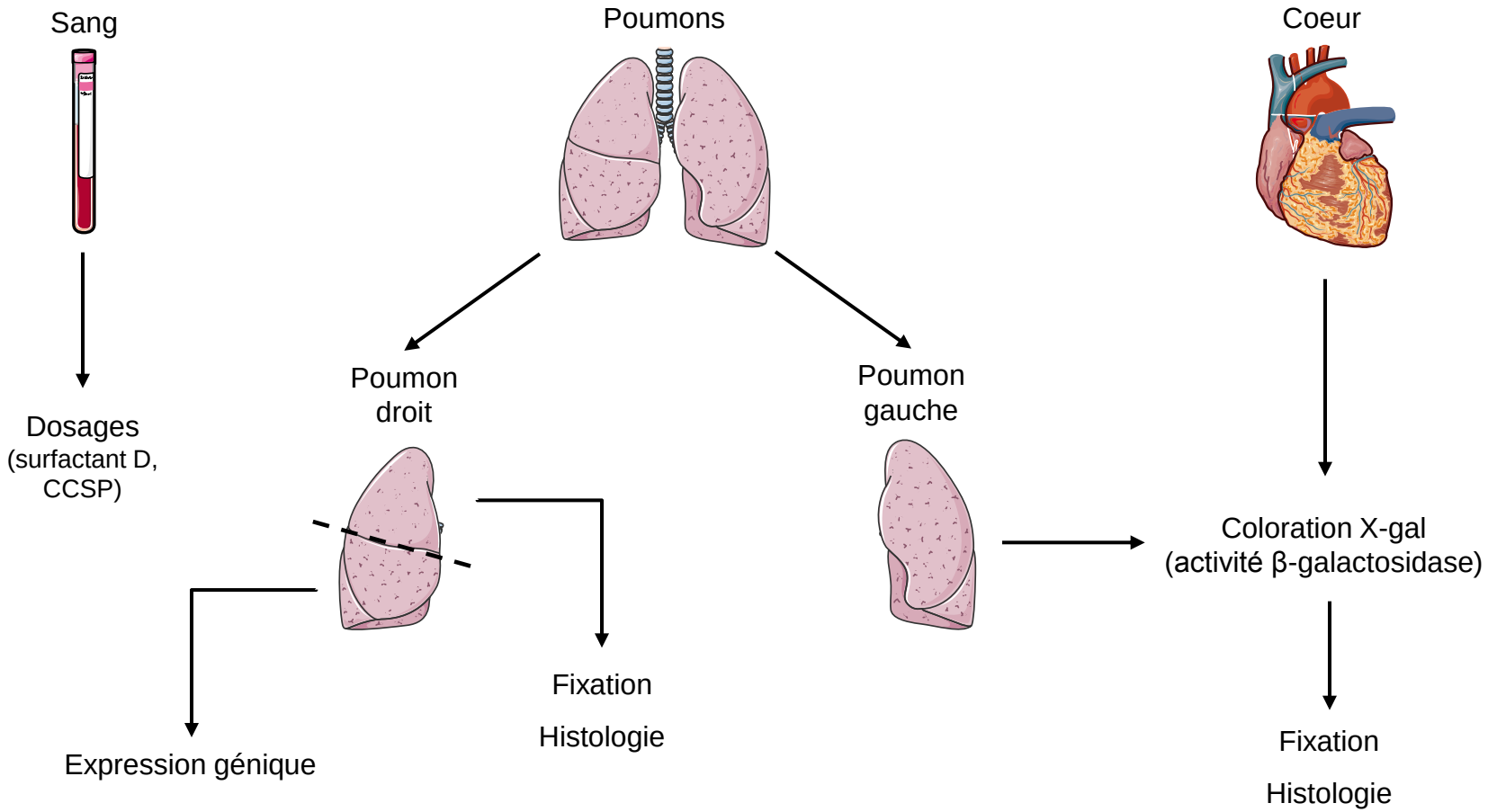
Scan micro CT
Euthanasie
Prélèvements (sang, poumons, cœur)

Groupe 6 : 0 Gy (n = 12)
Groupe 7 : 1 x 20 Gy (n = 12)
Groupe 8 : 3 x 11 Gy (n = 12)
Groupe 9 : 5 x 8,2 Gy (n = 12)
Groupe 10 : 22 x 3,3 Gy (n = 12)

Axe 2 : Fractionnement de la dose

LINAC
4 MV
2,5 Gy/min

➢ Acquisition de mesures biologiques *in vivo*



IRSN MEMBRE DE ETSON