

Anticiper les effets secondaires des nouvelles techniques de radiothérapie

CONTEXTE

> La mortalité liée au cancer diminue régulièrement en France grâce à des diagnostics plus précoces et des traitements plus efficaces. Aujourd'hui, environ 200 000 patients sont traités chaque année par radiothérapie, l'un des outils incontournables pour soigner cette maladie. Mais les risques de séquelles induits par ce traitement, en particulier

par les techniques et pratiques les plus récentes, restent mal connus. Or avec un nombre croissant de guérisons, réduire ces risques devient un enjeu de santé public de plus en plus important. Pour comprendre et anticiper ces effets secondaires l'IRSN a développé un programme de recherche préclinique sur la souris.

Cahier partenaire
réalisé avec

IRSN

www.irsn.fr

En quelques années, les technologies de radiothérapie ont fait d'énormes avancées : elles ciblent plus précisément les tumeurs. Mais quels sont les effets à long terme de ces nouvelles techniques d'irradiation sur les tissus sains ? De nouvelles études en radiothérapie stéréotaxique, un des outils très prometteurs notamment pour traiter le cancer du poumon, donnent un premier éclairage sur l'apparition des lésions induites par le traitement.

Selon l'Institut national du cancer (INCa), près de 50 % des personnes atteintes de cancer sont traitées par radiothérapie, technique qui utilise les rayonnements ionisants pour détruire les cellules cancéreuses. Il s'agit essentiellement de radiothérapie dite « externe », c'est-à-dire que l'appareil qui délivre la dose de rayonnement est situé à distance du patient. Il vise la tumeur de la manière la plus précise possible pour épargner au mieux les cellules saines avoisinantes. Suivant la tumeur et l'organe touché, au cours de l'ensemble d'un traitement, des doses comprises entre 20 et 80 grays (Gy) sont ainsi administrées à travers la peau. En bloquant la capacité à survivre ou à se diviser des cellules cancéreuses, l'irradiation permet d'éradiquer la tumeur. Malheureusement, et c'est la principale limite de cette approche, les tissus sains de la zone irradiée sont aussi endommagés, ce qui provoque des effets indésirables tels que la fatigue, des irritations de

la peau ou des muqueuses situées dans cette zone. Mais les cellules des tissus sains se réparent mieux que les cellules tumorales. L'efficacité de la radiothérapie repose donc sur cette différence de réponse entre tissu sain et tumeur ainsi que sur la capacité à cibler cette dernière. Et tout protocole radiothérapeutique est guidé par le rapport entre le bénéfice que procure le traitement et le risque qu'il fait courir au patient.

Ces dernières années, des avancées technologiques majeures, avec des outils de plus en plus complexes (scanner intégré, micro-collimateurs de particules) ont permis à la fois d'administrer des doses plus fortes par fraction et de mieux cibler la tumeur. Mais ces développements rapides et leurs applications cliniques précèdent les connaissances fondamentales en radiobiologie : « *On manque crucialement de données sur la réponse des petits volumes de tissus sains irradiés à forte dose* », explique Fabien Milliat, responsable du Laboratoire de radiobiologie des expositions médicales à l'IRSN. >

► Pour lui, le meilleur exemple d'un tel outil très performant et prometteur dont il faut comprendre les effets secondaires est la radiothérapie stéréotaxique.

Cette technique de radiothérapie, guidée par l'image de haute précision, adapte la dose de rayonnements à la tumeur et la délivre en tournant autour du malade. Fondée sur un ciblage très précis et en trois dimensions de la tumeur à l'aide de minifaisceaux de rayons X convergents, elle permet d'irradier un très petit volume, de quelques millimètres cubes (voir encadré). Ces petits faisceaux permettent aussi d'augmenter les doses : la dose délivrée en une seule séance peut ainsi atteindre 20 Gy alors qu'elle est seulement de 2 Gy en radiothérapie classique. Un traitement de 60 Gy habituellement réalisé en 30 séances est réalisé en 3 fois ! Un avantage considérable pour les patients et tout le système de santé.

Au départ, la radiothérapie stéréotaxique était indiquée pour les tumeurs cérébrales. Aujourd'hui, elle est proposée aux patients atteints du cancer du poumon le plus fréquent, dit « non à petites cellules », qui sont inopérables ou à ceux qui refusent l'intervention chirurgicale. Pour l'instant, c'est donc seulement une alternative à la chirurgie, qui reste le standard thérapeutique. Mais Fabien Milliat note une constante augmentation de l'utilisation de ce traitement depuis cinq ans et en anticipe une généralisation.

Il insiste également sur le fait que les patients ayant survécu à un cancer sont de plus en plus nombreux : « *On estime qu'il y aura en France environ 4 à 5 millions de survivants du cancer en 2022. C'est évidemment une bonne nouvelle, mais cela signifie aussi que les séquelles des traitements et plus précisément celles d'une radiothérapie et leur impact sur la qualité de vie après guérison devient une préoccupation de santé publique de plus en plus forte* ». Or malgré des volumes irradiés plus petits, les patients peuvent développer des effets délétères tardifs après radiothérapie stéréotaxique comme des pneumopathies et des fibroses* pulmonaires.

Il était donc impératif selon le radiobiologiste de développer un modèle expérimental « préclinique » pour comprendre comment ces lésions se développent. Autrement dit, étudier les effets de ce type d'irradiation *in vivo*, sur les tissus sains d'un petit animal comme la souris, qui développe des pathologies analogues à celles observées chez l'homme.

FORTE DOSE POUR PETIT VOLUME

Pour ce faire, en 2015, l'IRSN s'est doté d'un nouvel équipement très innovant, un SARRP (Small Animal Radiation Research Platform) (voir encadré). L'appareil combine un système d'imagerie scanner et une source de rayonnement X installés sur un bras qui tourne autour de la souris ainsi qu'un logiciel de planification de traitement. Il permet de scanner entièrement l'animal, d'analyser tous ses organes et, sur la base de ces images, de définir la dose à administrer et le volume précis à irradier. Grâce à ses collimateurs à champ variable, la taille de ce volume peut varier. « *On peut irradier un volume de 1 mm³ à un endroit spécifique du poumon de la souris, et comme on le fait en tournant autour de l'animal, l'irradiation est répartie sur la globalité de l'arc parcouru ce qui évite un effet focalisé sur un seul point d'entrée* », explique Morgane Dos Santos, physicienne et responsable de la plateforme. « *Cela permet de délivrer une dose très forte exactement dans ce volume, impossible sans cet équipement* », renchérit Fabien Milliat.

En développant cette expertise technologique sur ce modèle animal, l'équipe est parvenue à reproduire expérimentalement les conditions d'apparition des lésions induites par l'irradiation, les plus proches possible de celles observées chez l'homme. On peut ainsi cibler 4% du volume pulmonaire de l'animal, ce qui est comparable à la proportion irradiée chez l'homme pour une tumeur pulmonaire non à petites cellules, en condition stéréotaxique.

Un premier axe de recherche a porté sur le rôle même de l'administration de ces fortes doses sur les tissus sains : à partir de quelles doses les lésions apparaissent-elles ? Est-ce lié à la manière (volume visé, fractionnement de l'irradiation) dont la dose est délivrée ? Autant de questions auxquelles ont cherché à répondre Agnès François et Annaïg Bertho en testant durant trois ans différentes configurations, prolongeant ainsi les travaux de Jérémy Lavigne. Leurs expériences *in vivo* révèlent une assez grande tolérance des tissus pulmonaires de la souris quand on irradie de très petits volumes. Par exemple, une dose de 90 Gy délivrée sur un volume sphérique de 1 millimètre de diamètre ne provoque pas de lésion. Alors que cette dose administrée avec un champ d'irradiation de 3x3 mm crée une lésion. Elles ont ainsi déterminé pour la première fois les conditions d'apparition de ces effets secondaires tardifs : elle montre que pour qu'une fibrose pulmonaire se développe suite à une irradiation en stéréotaxie chez la souris, il faut délivrer 60 Gy en une dose unique sur un volume d'au moins 3 mm x 3 mm². La fibrose apparaît alors six mois après l'irradiation. Une progression lente à l'échelle de la souris, assez semblable à celle observée en clinique chez les patients.

Forte de ce nouveau modèle expérimental (qui comprend les conditions d'irradiation spécifiques d'une souris par le SARRP et les données de références associées), unique en France, l'équipe du Laboratoire de radiobiologie des expositions médicales a pu aborder un deuxième type de questionnement fondamental pour guider les stratégies à mettre en œuvre afin de limiter ces effets : quels sont les mécanismes biologiques qui conduisent à la

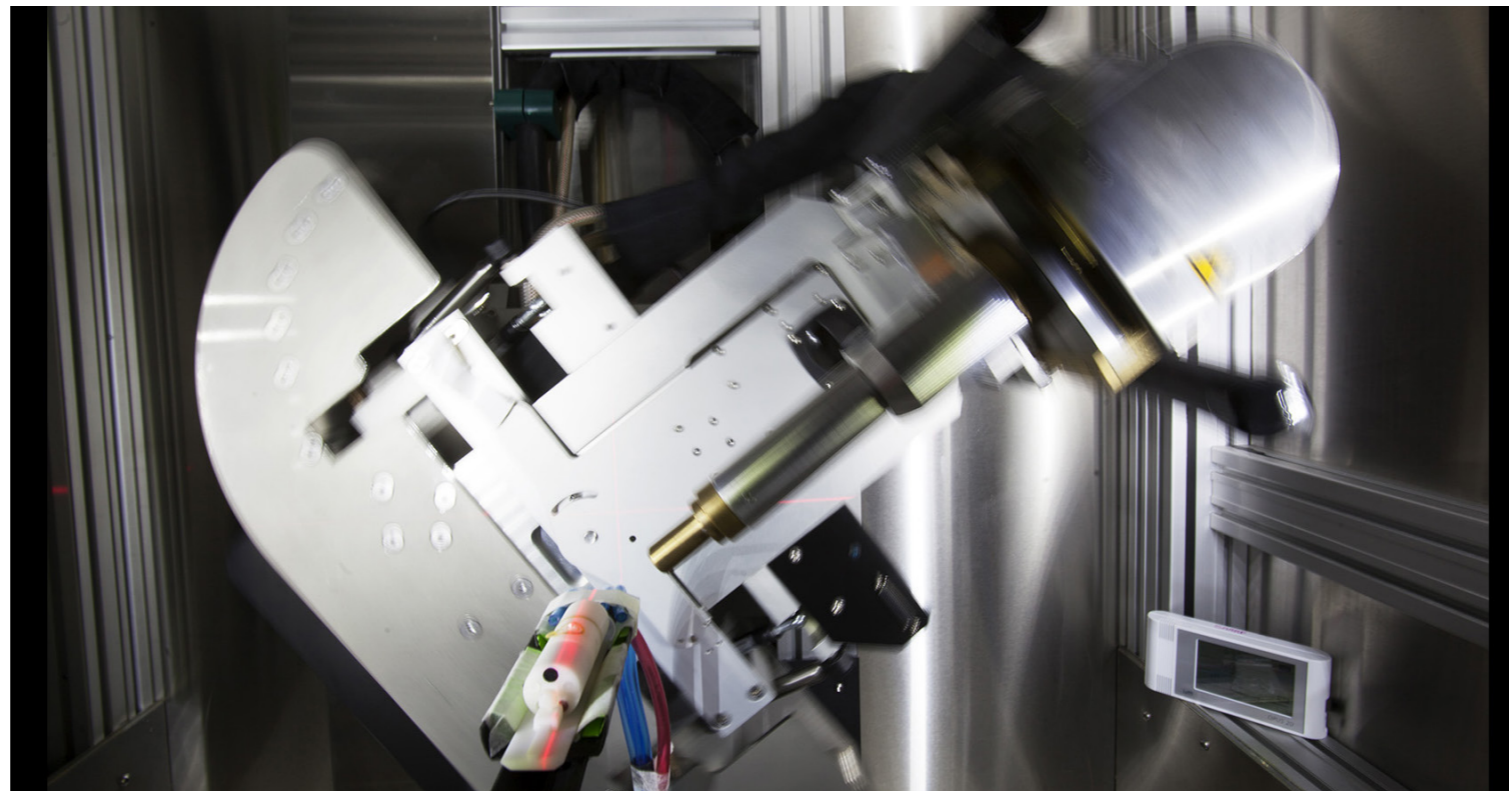
formation des lésions et à la fibrose ? Quelles cellules sont impliquées dans l'apparition et la progression des lésions ?

Les expériences et les analyses histologiques conduites par Jérémy Lavigne et Frédéric Soysouvanh répondent à la deuxième question : ils démontrent que trois types de cellules contribuent à ces processus : des cellules épithéliales – cellules du tissu qui protège les alvéoles pulmonaires – des cellules endothéliales vasculaires, celles qui tapissent l'intérieur des vaisseaux sanguins, et des macrophages, les cellules du système immunitaire.

SENESCENCE CELLULAIRE

Mais par quels mécanismes y participent-elles ? Depuis quelques années, les scientifiques s'intéressent à l'un d'entre eux : la sénescence, cet état de vieillissement de la cellule, caractérisé par l'arrêt complet et irréversible de la division cellulaire. C'est un puissant mécanisme suppresseur de tumeurs, mais sa persistance peut devenir délétère pour les tissus environnants. Car, bien que les tissus ne se régénèrent plus, les cellules sénescents peuvent provoquer la sécrétion de facteurs pro-inflammatoires et des réactions immunitaires qui pourraient contribuer à l'apparition tardive de lésions. La présence de sénescence avait déjà été observée au sein de lésions induites par irradiation sur des tissus sains, mais sans que l'on puisse établir qu'elle était à l'origine de la fibrose.

Pour explorer cette hypothèse, Frédéric Soysouvanh s'est intéressé plus particulièrement au rôle de la sénescence induite par le rayonnement sur les trois types de cellules qu'ils ont identifiées. Il a pour cela étudié des souris transgéniques qui permettent de



PLATEFORME DE RADIOTHÉRAPIE STÉRÉOTAXIQUE POUR SOURIS

Le SARRP (Small Animal Radiation Research Platform) est un « micro-irradiateur » guidé par l'image qui permet d'irradier un petit rongeur. Il utilise une source de rayonnements X montée sur un bras centré qui tourne à plus ou moins 180° et qui sert à la fois pour l'irradiation et l'imagerie. La cabine d'irradiation est équipée d'un scanner

qui permet de réaliser des images de la souris avec une résolution de 200 µm et de cibler une structure anatomique particulière de l'animal avec une précision de 0,2 mm. Le traitement est planifié en temps réel en fonction de ces images grâce à un logiciel de planification de traitement intégré à l'appareil : l'instrument peut irradier l'endroit ciblé dans un volume de taille variable allant de 0,5 mm de diamètre (collimateur circulaire) à 10 mm x 10 mm² (collimateur à champ carré).

IMPACT SUR LA TUMEUR

Parallèlement à l'étude des effets de la radiothérapie stéréotaxique sur les tissus sains du poumon de la souris, l'IRSN étudie, grâce à l'approche préclinique développée chez la souris, l'impact sur les cellules tumorales pour augmenter l'efficacité de ce traitement. Avec l'équipe du Pr Éric Deutsch, radiothérapeute à Gustave Roussy, et celle d'Alexandre Boissonnas, immunologiste au Centre d'immunologie de la Pitié-Salpêtrière, il participe à un projet financé par l'INCa, focalisé sur le rôle de certaines cellules immunitaires (dont les macrophages) dans la réponse de la tumeur au traitement. Avec l'idée d'utiliser, le cas échéant, les stratégies de ciblage du système immunitaire contre les cellules tumorales.

détecter par bioluminescence les cellules sénescents. Il a utilisé le modèle développé au sein du laboratoire sur la plateforme SARRP pour les soumettre à une irradiation stéréotaxique provoquant des lésions. Résultat, qu'il s'agisse d'une dose unique de 90 Gy ou d'une dose fractionnée en 5 fois 20 Gy, l'imagerie en bioluminescence révèle bien la présence de cellules sénescents dans le volume pulmonaire irradié de 3 x 3 mm² et autour de la lésion. Par des analyses histologiques l'équipe a montré que la sénescence des trois types de cellules – épithéliales, endothéliales et macrophages – persiste jusqu'à 21 mois après l'irradiation. Mieux encore, ces analyses montrent que la quantité de cellules sénescents augmente à mesure que la fibrose s'installe, suggérant un lien.

Ces avancées prometteuses, ainsi que d'autres résultats sur le système immunitaire obtenus par l'équipe, poussent le laboratoire à focaliser ses recherches sur le rôle particulier des macrophages. Plusieurs études précliniques ont décrit l'importance de ces cellules à la fois dans la réponse de la tumeur et dans celle des tissus sains qui suit une radiothérapie conventionnelle mais très peu de données sont disponibles après radiothérapie stéréotaxique. Ces premiers résultats indiquent donc que ces cellules immunitaires sont une piste de recherche intéressante et une cible potentielle pour de futures stratégies de limitation des effets secondaires des radiothérapies. Et plus globalement pour optimiser l'effet du traitement sur la tumeur (voir encadré « Impact sur la tumeur »). Toutes ces données acquises sur la souris ne sont évidemment pas directement transposables à l'homme. Mais ce sont des connaissances indispensables pour poser les jalons de ces stratégies thérapeutiques futures qui visent à la fois à limiter les lésions aux tissus sains et à augmenter l'efficacité anticancéreuse de la radiothérapie. ■

NOTES

► La fibrose pulmonaire radio-induite est une accumulation excessive de matrice extracellulaire, notamment des collagènes qui envahissent la zone irradiée et impactent la capacité respiratoire.

RÉFÉRENCES

► <https://www.irsn.fr/FR/Larecherche/outils-scientifiques/installations-moyens-experimentaux/irradiateur-SARRP/Pages/irradiateur-SARRP.aspx>

► Lung stereotactic arc therapy in mice: Development of radiation pneumopathy and influence of HIF-1alpha endothelial deletion. Lavigne J. et al. Int J Radiat Oncol Biol Phys, vol 104, p 279-290, 2019

► Stereotactic Lung Irradiation in Mice Promotes Long-Term Senescence and Lung Injury, Int Radiat Oncol Biol Phys, Soysouvanh F. et al. Vol. 106, p. 1017-1027, 2020

► Preclinical Model of Stereotactic Ablative Lung Irradiation Using Arc Delivery in the Mouse: Effect of Beam Size Changes and Dose Effect at Constant Collimation, Bertho A. et al., Int J Radiation Oncol Biol Phys, Vol. 107, pp. 548-562, 2020