

# Etude préliminaire portant sur la comparaison entre irradiation in vitro et analyse in silico

**DALESME Aurélien**

**Etudiant Master II Université Blaise Pascal**

**Physique et Technologies des Rayonnements  
&  
Imagerie et Physique Médicale**

**Equipe PCSV  
Laboratoire de Physique Corpusculaire  
Clermont-Ferrand**

V. Chassin<sup>c</sup>, D. Donnarieix<sup>c</sup>, Y. Perrot<sup>a, b</sup>, L. Maigne<sup>a, b</sup> et F. Penault-Llorca<sup>d</sup>

<sup>a</sup> Clermont Université, Université Blaise Pascal, LPC, BP 10448, 63000 Clermont-Ferrand, France

<sup>b</sup> CNRS/IN2P3, UMR 6533, LPC, 63177 Aubièrre, France

<sup>c</sup> Centre Jean Perrin, Service de radiothérapie, 58 Rue Montalembert, 63000 Clermont-Ferrand, France

<sup>d</sup> Centre Jean Perrin, Service d'anatomo-pathologie, 58 Rue Montalembert, 63000 Clermont-Ferrand, France

## Introduction

Les lignées cellulaires du cancer du sein triple négatif correspondent à des modèles du cancer du sein très agressifs n'exprimant ni les récepteurs hormonaux, ni HER2 (Human Epidermal Growth Factor Receptor 2)<sup>1,2,3</sup>. Des essais cliniques de phase précoce II, ciblant la voie EGFR (Human Growth Factor Receptor)<sup>4</sup> à l'aide d'anticorps en stratégie néo-adjuvante, ont été menés<sup>5</sup> avec des résultats encourageants. Le but de notre étude est de montrer l'efficacité d'un traitement utilisant à la fois des anticorps anti-EGFR et une radiothérapie à différents niveaux de dose et de fractionnement. Pour cela, une étude préliminaire faisant intervenir une comparaison d'analyses in silico (simulations Monte Carlo) et in vitro (cultures cellulaires 2D et irradiations) est mise en œuvre.

## Matériels et méthodes

Les cellules de type SUM 1315, sont mises en culture en 2D dans les conditions adéquates leur permettant adhésion et multiplication<sup>6</sup>.

Ces cellules sont ensuite conditionnées pour l'irradiation dans des plaques multi-puits<sup>7,8</sup> (96puits) à différentes concentrations : 700, 1800, 3500 et 7000 cellules par puits. Chaque plaque est irradiée par un faisceau de photons 15 MV (accélérateur Novalis Tx) pour une gamme de doses allant de 0 à 50 Gy ainsi que par un irradiateur RX (X-RAD 320). La survie cellulaire après irradiation est mesurée par le test du SRB<sup>6,9</sup> (Sulforamide B, colorant des protéines membranaires) à différents temps (t = 0, t = 24 h et t = 72 h). Ce test permet de relier l'absorbance de la solution avec la concentration de cellules vivantes.

Ces irradiations sont comparées à des simulations Monte Carlo GATE ([www.opengatecollaboration.org](http://www.opengatecollaboration.org)) utilisant les modèles GEANT4-DNA (<http://geant4-dna.org/>). Ces simulations reproduisent les conditions expérimentales : spectre en énergie des particules primaires, géométries cellulaires fidèles au modèle SUM1315 (ellipsoïdale)<sup>10</sup>, calcul de dose à l'échelle cellulaire utilisant des modèles dédiés au suivi des électrons de manière discrète (diffusion élastique, ionisations, excitations).

## Résultats

Les irradiations à une énergie de 15 MV sur le Novalis ont été réalisées pour des doses de 2, 5, 25 et 50 Gy. Les résultats sont présentés dessous.

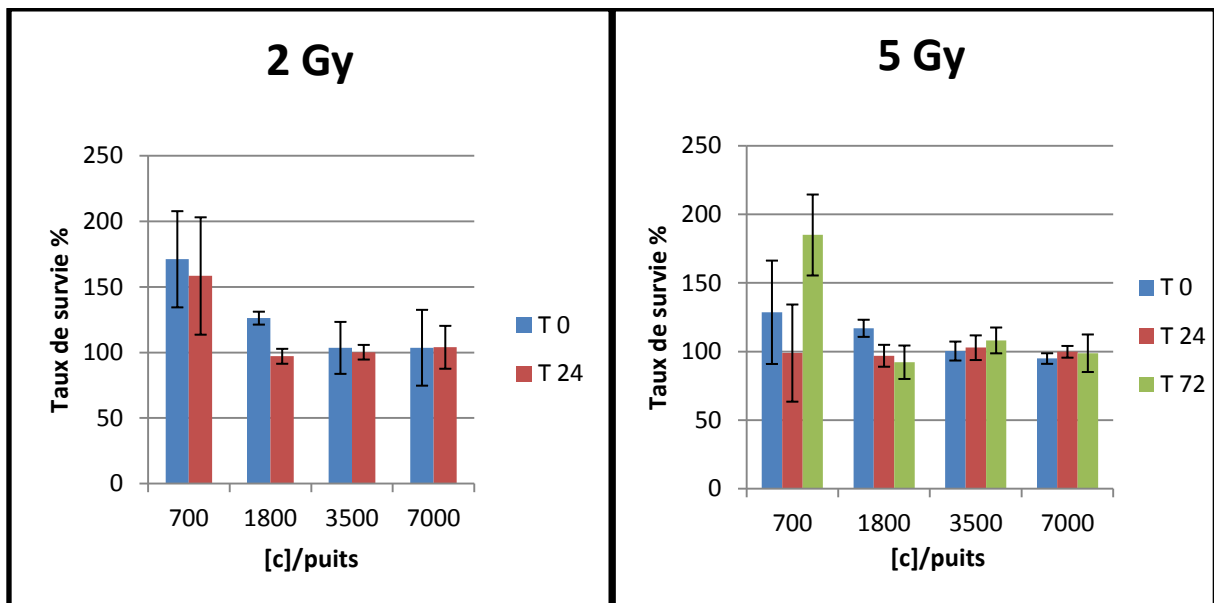


Figure 1, taux de survie pour 2 et 5 Gy

En exceptant la concentration à 700, les taux de survie sont proches de 100% pour tous les temps mesurés. Ainsi, soit la sensibilité du test n'est pas suffisante, soit les cellules sont radio-résistantes. Il a été trouvé dans la littérature que les tumeurs triples négatives sont très (radio) résistantes. En effet, 5 % des patientes sont toujours en vie au bout de 10 ans. De plus cette lignée est mutée sur P53, d'où la résistance à l'apoptose radio-induite.

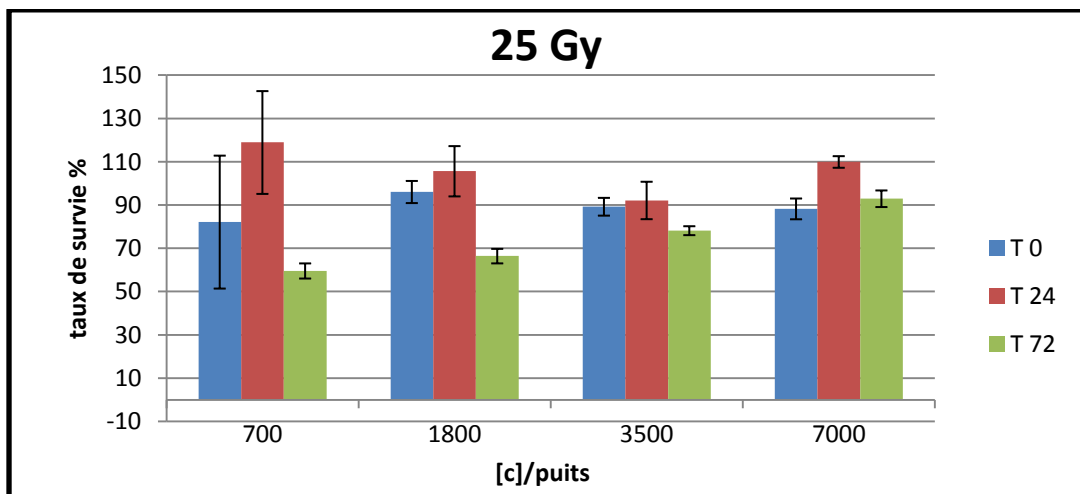


Figure 2, taux de survie pour 25 Gy

A la différence avec 2 & 5 Gy, les taux de survie ne sont pas identiques pour tous les temps. On note au temps t+72h des taux de survie en dessous des 100 %, avec une augmentation de la survie lorsque la densité cellulaire est augmentée. Une analyse de variance montre ( $p < 0,05$ ) une différence significative entre les échantillons exposés à 25 Gy pour la lecture réalisée à 72h. Ainsi on peut se demander si les dommages sub-létaux sont « mieux réparés » quand la densité cellulaire est importante.

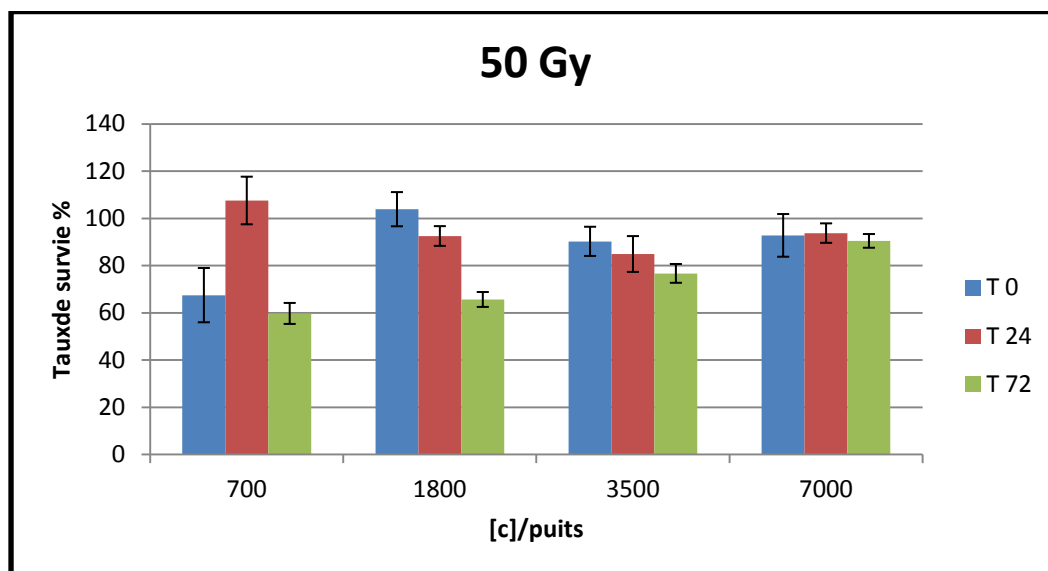


Figure 3, taux de survie pour 50 Gy

On retrouve à t+72h l'augmentation de la survie cellulaire lorsque la densité cellulaire est importante ( $p < 0,05$ ).

Ainsi pour une dose à 50 Gy la mortalité cellulaire n'est pas spectaculaire, on peut donc supposer que les cellules sont radio-résistantes. Pour essayer d'augmenter la mortalité cellulaire, la même expérience sera répétée avec des photons de basse énergie (250 KV), pour espérer augmenter l'effet biologique. Actuellement les manipulations sont en cours et ne peuvent donc pas être exposé dans ce résumé.

Les simulations via le code GEANT4 sont en construction. Elles permettront de mettre en corrélation la mortalité cellulaire in vitro avec les dépôts d'énergie obtenus via les simulations.

## Conclusion

Le but de cette étude est de pouvoir identifier la potentialisation de la radiothérapie des traitements du cancer du sein par chimiothérapie utilisant des anti-EGFR. Cette étude préliminaire a permis de corréler une survie cellulaire à un calcul de dose à l'échelle cellulaire avec la plateforme GATE couplée aux processus GEANT4-DNA. Une étude plus approfondie utilisant un fractionnement de la dose est également envisagé.

## Références

- [1] Anders C.K and Carey L.A. 2009. Biology, Metastatic Patterns, and Treatment of Patients with Triple-Negative Breast Cancer. *Clin Breast Cancer*. 2:73-81.
- [2] Hudis, C. A., & Gianni, L. (2011). Triple-negative breast cancer: an unmet medical need. *The oncologist*, 16 Suppl 1, 1–11. doi:10.1634/theoncologist.2011-S1-01.
- [3] Meunier, E. (2011). Interrelations entre les protéines Rho et le récepteur des oestrogènes alpha dans des modèles de cancers mammaires. Toulouse : Université Paul Sabatier, Toulouse 3.
- [4] Lemmon, M. A. (2003). The EGF receptor family as therapeutic targets in breast cancer. *Breast disease*, 18, 33–43.
- [5] ERTICa, F. Penault-Llorca, Ciblage-de-la-voie-EGFR-dans-les-tumeurs-du-sein-«triple-négatives-» Retrieved from <http://edsvs.univ-bpclermont.fr/wp-content/uploads/2011/04/EA-ERTICa-Ciblage-de-la-voie-EGFR-dans-les-tumeurs-du-sein-«triple-négatives-»-TNBC..pdf>
- [6] R.Dufour, “ Impact de l’Olaparib, un inhibiteur de PARP1, sur l’expression des protéines « Multidrug Resistance » dans une lignée de cancer mammaire de phénotype Basal-like triple négatif ”. Rapport de stage de master 2 auprès du laboratoire de recherche ERTICa 2011.
- [7] Lee, K. B., Kim, K.-R., Huh, T.-L., & Lee, Y. M. (2008). Proton induces apoptosis of hypoxic tumor cells by the p53-dependent and p38/JNK MAPK signaling pathways. *International journal of oncology*, 33(6), 1247–56.
- [8] Zepeda-Moreno, A., Taubert, I., Hellwig, I., Hoang, V., Pietsch, L., Lakshmanan, V. K., Wagner, W., et al. (n.d.). Innovative method for quantification of cell-cell adhesion in 96-well plates. *Cell adhesion & migration*, 5(3), 215–9.
- [9] Banasiak, D., Barnetson, A. R., Odell, R. A., Mameghan, H., & Russell, P. J. (1999). Comparison between the clonogenic, MTT, and SRB assays for determining radiosensitivity in a panel of human bladder cancer cell lines and a ureteral cell line.
- [10] Tran, N. H. (2012). Extension et validation de l’outil Geant4 dans le cadre du projet Geant4-DNA pour la prédiction des dommages biologiques radio-induits à l’échelle cellulaire. Retrieved from <http://tel.archives-ouvertes.fr/tel-00780481>.