

ARTICLE

Radiobiologie des très fortes doses par fraction : connaissances en 2020 et nouvelles modélisations précliniques

A. Bertho¹, M. Dos Santos², A. François^{1,a,*} et F. Milliat¹

¹ Institut de radioprotection et de sûreté nucléaire (IRSN), Service de recherche en radiobiologie et en médecine régénérative, Laboratoire de radiobiologie des expositions médicales, 31 avenue de la Division Leclerc, 92260 Fontenay-aux-Roses, France.

² Institut de radioprotection et de sûreté nucléaire (IRSN), Service de recherche en radiobiologie et en médecine régénérative, Laboratoire de radiobiologie des expositions accidentelles, 31 avenue de la Division Leclerc, 92260 Fontenay-aux-Roses, France.

Reçu le 23 juin 2020 / Accepté le 30 septembre 2020

Résumé – La radiothérapie en conditions stéréotaxiques, ou radiothérapie stéréotaxique, résulte des améliorations techniques de délivrance de dose, par l’optimisation de l’imagerie, de la précision du positionnement des patients et dans la modulation de la balistique des faisceaux. La précision balistique assure une conformation précise au volume tumoral et réduit les marges, minimisant ainsi le volume de tissus sains exposés et le risque de toxicité. Cette réduction de volume irradié autorise l’utilisation de fortes doses par fraction et assure un excellent contrôle tumoral en particulier sur les cancers bronchiques non à petites cellules inopérables de stade précoce. La possibilité d’utiliser de fortes doses par fraction a considérablement modifié les schémas de fractionnement, changeant ainsi les réponses des tissus sains et tumoraux aux rayonnements ionisants et probablement globalement la radiobiologie tissulaire. Ces nouvelles modalités thérapeutiques nécessitent la mise en place de modèles précliniques de plus en plus complexes. Grâce à l’évolution technique une fois encore, il est aujourd’hui possible de modéliser l’irradiation en conditions stéréotaxiques chez le rongeur. Ces nouveaux modèles permettront d’appréhender la réponse des tumeurs et des tissus sains à ces nouveaux protocoles de radiothérapie.

Mots clés : exposition médicale / radiothérapie / effets sur la santé / poumon / humain / poumon / souris

Abstract – **Radiobiology of high doses per fraction: knowledge in 2020 and new preclinical models.** Stereotactic body radiation therapy results from technical advances in dose delivery, *via* imaging optimization, accuracy in patients positioning and in beam geometry modulation. Ballistic accuracy ensures precise conformation to the tumor volume, reducing margins and thus minimizing the volume of exposed healthy tissues and treatment-related toxicity. The reduction of exposed volume allows the use of high doses per fraction and is associated with an excellent tumor control, especially for early stage inoperable non-small cell lung cancer. The possibility to use high doses per fraction considerably changed fractionation schedules, thus impacting tumors and healthy tissues response to radiation exposure and more globally tissue radiation biology. These new therapeutic modalities necessitate the optimization of preclinical models. Thanks to technical progress once again, it is possible nowadays to model stereotactic radiation exposure in rodents. These new models will allow the apprehension of tumor and healthy tissues response to such new modalities of radiation exposure.

Keywords: medical radiation / radiation therapy / health effect / lungs / human / lungs / rodent

1 Introduction

Depuis une vingtaine d’années, nous vivons une (r) évolution de la radiothérapie avec le développement d’une

balistique beaucoup plus précise et l’apparition de nouvelles techniques. Ces améliorations ont mené à un bouleversement profond des protocoles de délivrance de dose. Ainsi, aujourd’hui, l’utilisation de doses dites ablatives, allant de 6 à 20 Gy par fraction (au lieu de 2 Gy), prend une place particulière dans la pratique clinique de routine. L’utilisation de telles doses est possible grâce à la réduction des volumes de tissus sains irradiés, à l’utilisation de techniques d’imagerie performantes, d’outils balistiques de précision et grâce à une

*Auteur de correspondance : agnes.francois@irsn.fr

^a Institut de radioprotection et de sûreté nucléaire, PSE-SANTE/SERAMED/LRMed, 31 avenue de la Division Leclerc, 92260 Fontenay-aux-Roses, France.

décroissance de dose rapide en dehors du volume cible. Cette nouvelle approche est la radiothérapie en conditions stéréotaxiques (ou radiothérapie stéréotaxique). Utilisée dans un premier temps pour les tumeurs bénignes et les malformations artérioveineuses intracrâniennes (on parle alors plus fréquemment de radiochirurgie), la radiothérapie stéréotaxique est utilisée aujourd'hui pour certaines tumeurs malignes extracrâniennes et, en particulier, dans la prise en charge des tumeurs bronchopulmonaires de stade précoce comme alternative à la chirurgie. Rapidement, la radiothérapie stéréotaxique pulmonaire a fait ses preuves avec une efficacité antitumorale indéniable.

L'utilisation de ces fortes doses par fraction a fait émerger une nouvelle radiobiologie pour les tissus sains et la tumeur, qui pourrait expliquer l'efficacité clinique de la radiothérapie stéréotaxique. Cependant, l'exposition aux rayonnements ionisants des tissus sains, même sur de petits volumes, est susceptible de déclencher le développement d'effets secondaires. Même s'il commence à y avoir un certain recul clinique sur cette technique de radiothérapie, il y a aujourd'hui un manque crucial de données radiobiologiques sur la réponse des petits volumes de tissus sains irradiés à forte dose par fraction. Actuellement, les indications pour la radiothérapie stéréotaxique augmentent et de plus en plus de centres s'équipent de machines dédiées résultant en un nombre croissant de patients traités. Il est donc primordial de pouvoir mieux comprendre la réaction des tumeurs et des tissus sains aux fortes doses par fraction en mettant en lumière les mécanismes radiopathologiques impliqués dans cette réponse.

Le laboratoire de radiobiologie des expositions médicales de l'IRSN a pour but l'étude des mécanismes physiopathologiques impliqués dans l'initiation et le développement des lésions aux tissus sains résultantes de l'exposition aux rayonnements ionisants dans un contexte médical. Mieux comprendre les conséquences radiobiologiques et radiopathologiques des fortes doses par fraction passe par le développement de modèles radiobiologiques *in vivo*. Le développement de modèles précliniques pertinents faisait face, jusqu'à peu, à un verrou technologique qui a été levé avec la mise sur le marché d'irradiateurs dédiés au petit animal tels que le *Small Animal Radiation Research Platform* (SARRP, XStrahl Ltd., UK). Le SARRP rend possible l'étude de la réponse des tissus sains exposés à de fortes doses sur de petits volumes. Ainsi, le laboratoire de radiobiologie des expositions médicales, en collaboration avec Morgane Dos Santos, physicienne, a mis en place un modèle pertinent cliniquement et unique au monde d'irradiation stéréotaxique pulmonaire en arc-thérapie chez la souris pour étudier les mécanismes de réponse des tissus sains à ces nouvelles modalités de traitement.

2 Réponse tumorale à l'hypofractionnement sévère

L'efficacité de la radiothérapie stéréotaxique observée en clinique est expliquée par la nature de la réponse tumorale aux fortes doses par fraction, dont les mécanismes diffèrent de ceux connus en radiothérapie conventionnelle (Brown *et al.*, 2014). La radiothérapie stéréotaxique se caractérise principalement par l'administration de très fortes doses par fraction mais

également par l'irradiation de petits volumes, une distribution de dose inhomogène et des temps de traitement très courts (Macia, 2017). Si on ne peut s'affranchir des 5R de la radiobiologie classique (Steel *et al.*, 1989), cette « nouvelle radiobiologie » montre que la mort cellulaire indirecte causée par les dommages vasculaires et la mise en place d'une immunité antitumorale brisent le dogme de la molécule d'ADN comme seule cible des rayonnements ionisants (Boustani *et al.*, 2019). La mort cellulaire tumorale après irradiation à forte dose ne dépend plus uniquement des dommages à l'ADN mais également de cette mort cellulaire tumorale indirecte. Les dommages vasculaires radio-induits par les fortes doses par fraction concernent également les tissus sains, générant là aussi probablement une « nouvelle radiobiologie » des tissus sains (Song *et al.*, 2014).

2.1 Paramètres liés au protocole

La radiothérapie stéréotaxique diffère en tout point de la radiothérapie conventionnelle de par les volumes irradiés, la manière dont les doses sont déposées, les doses par fraction, l'intervalle entre les fractions, la dose totale ou encore le temps de traitement. De nombreuses questions restent encore en suspens en rapport avec la radiobiologie « historique » et l'application des 5R dans le contexte de la radiothérapie stéréotaxique : réparation des dommages sublétaux, repopulation, redistribution dans le cycle, réoxygénation, radiosensibilité intrinsèque. La question de l'applicabilité des 5R dans le cadre de la radiothérapie stéréotaxique a fait l'objet de revues par Brown *et al.* (2014) et Song *et al.* (2019).

À titre d'exemple, on sait depuis longtemps que le fractionnement de la dose en radiothérapie conventionnelle favorise la réoxygénation tumorale entre deux fractions et participe à l'efficacité antitumorale. On ne sait pas encore aujourd'hui si la radiothérapie stéréotaxique peut s'affranchir de ce paramètre ou si l'hypoxie reste un facteur minimisant son efficacité. Les fortes doses pourraient créer une anoxie et ainsi tuer les cellules clonogènes hypoxiques sans avoir besoin de la réoxygénation. La réalité dépend probablement de la nature de la tumeur et de son volume, sachant que les tumeurs traitées par radiothérapie stéréotaxique sont de volume restreint, et vraisemblablement relativement homogènes en termes d'oxygénation. De la même manière, délivrer une dose ablative de l'ordre de 10 à 20 Gy demande un certain temps par rapport à une fraction journalière de 2 Gy en radiothérapie conventionnelle. Ce temps d'irradiation allongé permettrait la réparation cellulaire au cours de l'irradiation, ce qui pourrait avoir un impact négatif sur la qualité du contrôle tumoral. Globalement, on essaie de ne pas dépasser 30 min pour une séance afin de limiter la réparation cellulaire pendant le traitement. La radiothérapie stéréotaxique reste une technique jeune et de nombreuses études demeurent nécessaires pour mieux connaître la radiobiologie associée à cette nouvelle pratique.

Enfin, et au-delà des 5R, la géométrie des faisceaux est très différente de la radiothérapie conventionnelle, avec une multiplicité de faisceaux, coplanaires ou non, parfois en arc-thérapie, délivrant une multitude de doses faibles convergeant en un point. La dose reçue par la tumeur et surtout par les tissus sains est donc très complexe à modéliser, avec une hétérogénéité qui peut être déterminante dans la réponse à

l'irradiation, et donc influencer cette « nouvelle radiobiologie ». Le travail de radiobiologiste et la mise au point de nouveaux modèles sont complexes et ne peuvent se faire qu'en concertation étroite avec les services de physique et de dosimétrie.

2.2 Dommages vasculaires

La radiothérapie conventionnelle a tendance à améliorer, légèrement, la morphologie et la fonctionnalité de la vascularisation tumorale pendant les premières semaines de traitement (Song *et al.*, 2014 ; Ng *et al.*, 2007 ; Mantyla *et al.*, 1982 ; Wong *et al.*, 1973). Les vaisseaux tumoraux sont détruits en même temps que la tumeur régresse. À l'inverse, les fortes doses par fraction utilisées en radiothérapie stéréotaxique entraînent des dommages vasculaires au sein de la tumeur induisant une mort indirecte des cellules tumorales (Song *et al.*, 2015). Cette mort indirecte résulte de la dégradation du microenvironnement tumoral suite aux dommages vasculaires : occlusion des vaisseaux, thrombose (Solesvik *et al.*, 1984), diminution de la perfusion (Kioi *et al.*, 2010), vasodilatation et rupture des vaisseaux (Lasnitzki, 1947). Wong *et al.* ont beaucoup travaillé à la description de ces changements vasculaires tumoraux après irradiation dans les années 1970 : diminution ou augmentation du volume vasculaire selon le type de tumeur étudié, diminution du volume vasculaire fonctionnel, changements de perméabilité, augmentation ou diminution du débit sanguin après irradiation (Wong *et al.*, 1973). En 2015, Song *et al.* mettent une fois de plus en avant l'importance du microenvironnement tumoral dans la réponse à l'hypofractionnement sévère appliqué en radiothérapie stéréotaxique (Song *et al.*, 2015). Des fibrosarcomes implantés en sous-cutané chez la souris C3H sont irradiés avec des doses de 15 à 30 Gy puis les cellules mises en culture afin d'obtenir des courbes de survie. La mort des cellules tumorales augmente progressivement en 2 à 5 jours après irradiation. Cette mort cellulaire tumorale indirecte serait liée à la dégradation du microenvironnement tumoral *via* la diminution de la perfusion sanguine et donc l'augmentation de l'hypoxie. L'efficacité clinique des fortes doses par fraction est probablement due à cette mort cellulaire indirecte. Ono *et al.* ont réalisé une irradiation spécifique des cellules endothéliales composant les vaisseaux tumoraux avec une dose de 30 Gy *via* la réaction $^{10}\text{B}(\alpha)^7\text{Li}$ (transformation du ^{10}B en ^7Li). Cette irradiation spécifique a complètement arrêté la croissance tumorale sans irradier les cellules tumorales (Ono *et al.*, 2003). Ils montrent ainsi que la dégradation de la vascularisation tumorale seule permet la régression tumorale. Par contre, Kioi *et al.* ont pu observer une régénération des vaisseaux après irradiation *via* la vasculogénèse impliquant les cellules dérivées de la moelle osseuse (Kioi *et al.*, 2010). Cela pourrait impliquer l'existence d'un protocole optimal d'hypofractionnement sévère pour pouvoir engendrer la mort des cellules tumorales de manière indirecte *via* les effets vasculaires. Kjellsson *et al.* soulignent également que la fragilité de la microvascularisation tumorale fait que les vaisseaux peuvent se collapsier spontanément. Cela entraîne une privation de nutriments pouvant conduire à la mort indirecte des cellules tumorales ainsi qu'une hypoxie aiguë sévère qui pourrait induire une radiorésistance plus importante que celle induite

par l'hypoxie chronique. Cette hypoxie aiguë pourrait être un obstacle au contrôle local de la tumeur (Lindblom *et al.*, 2019). En effet, l'hypofractionnement ne favorisant pas le processus de réoxygénation tumorale autant que peut le faire le fractionnement conventionnel, la persistance de cellules tumorales hypoxiques et radiorésistantes pourrait compromettre l'efficacité thérapeutique de l'irradiation stéréotaxique pour certaines tumeurs plus volumineuses. Certains auteurs proposent d'associer à l'irradiation stéréotaxique des stratégies de radiosensibilisation des cellules hypoxiques (Brown *et al.*, 2010).

Il faut garder à l'esprit que la microvascularisation tumorale est constituée de cellules endothéliales peu connectées entre elles avec une membrane basale incomplète et avec des péricytes peu présents. L'espace entre les cellules endothéliales tumorales est souvent occupé par des cellules tumorales (Carmeliet et Jain, 2011). Les vaisseaux capillaires tumoraux sont donc désorganisés, fragiles et vulnérables au stress. De plus, les cellules endothéliales tumorales sont plus radiosensibles que les cellules endothéliales saines (Oh *et al.*, 2014). Garcia-Barros *et al.* ont pu mettre en évidence l'une des causes de ces dommages vasculaires induits par les fortes doses de rayonnements : l'apoptose radio-induite des cellules endothéliales tumorales à partir de 8/10 Gy en dose unique *via* l'activation de la sphingomyélinase acide (aSMase) et la production de céramide, un lipide pro-apoptotique (Garcia-Barros *et al.*, 2003). La production de céramides dans les cellules endothéliales tumorales après irradiation induit une apoptose rapide qui entraîne la régression tumorale. Ils mettent en évidence que la régression tumorale est principalement portée par l'apoptose des cellules endothéliales aux fortes doses. Grâce à la transplantation des cellules tumorales dans des souris invalidées pour la sphingomyélinase (l'apoptose *via* les céramides est inhibée), ils montrent que la régression tumorale est inhibée quand l'apoptose radio-induite des cellules endothéliales tumorales est inhibée (Fig. 1).

Ce mécanisme apoptotique quasi spécifique des cellules endothéliales est à l'origine de leur radiosensibilité. En effet, les cellules endothéliales auraient une quantité d'aSMase beaucoup plus importante à l'état basal que d'autres types cellulaires, jusqu'à 20 fois supérieur (Haimovitz-Friedman *et al.*, 1994). L'apoptose radio-induite des cellules endothéliales aux fortes doses concerne également le compartiment endothélial des tissus sains. En effet, les travaux de Paris *et al.* (2001) ont montré que l'apoptose des cellules endothéliales par la voie de l'aSMase et des céramides est l'évènement initiateur du syndrome gastro-intestinal chez la souris. L'apoptose des cellules endothéliales a lieu avant l'apoptose des cellules souches épithéliales après irradiation corps entier à 15 Gy. Que ce soit dans la lésion radio-induite au tissu sain ou dans la mort cellulaire tumorale indirecte l'apoptose des cellules endothéliales est un mécanisme initiateur qui reste à étudier. Cette apoptose des cellules endothéliales est responsable de l'augmentation de la perméabilité des capillaires et des dommages radio-induits à la microvascularisation tumorale.

Néanmoins, il manque encore aujourd'hui des données sur la réalité clinique de l'impact des dommages à la microvascularisation tumorale sur l'efficacité thérapeutique des fortes doses par fraction. En particulier, des questions se posent quant à la part de la mort cellulaire directe *versus* celle qui serait la conséquence des dommages vasculaires. Les zones

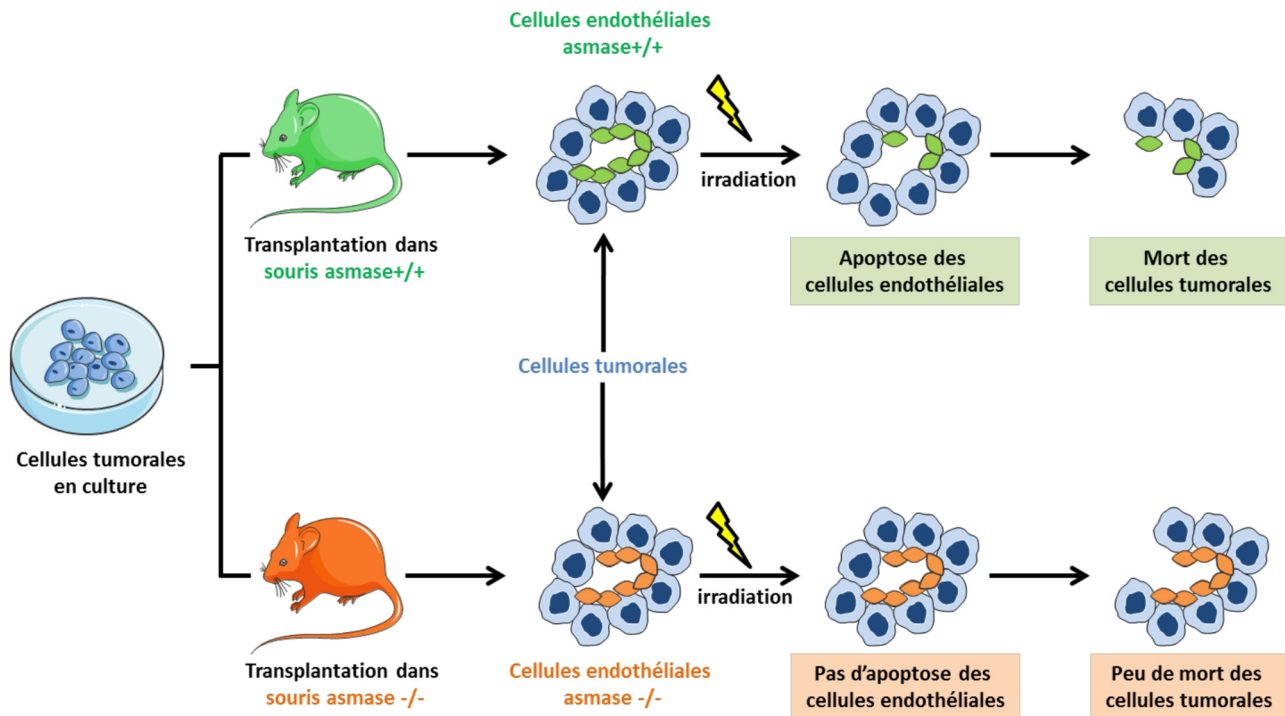


Fig. 1. Implication de l'endothélium dans la régression tumorale après irradiation (Supiot et Paris, 2012).

d'ombre persistantes sur ce sujet, en relation avec les 5R de la radiobiologie « classique » sont très bien évoquées dans la revue de Song *et al.* (2019).

2.3 Rôle de l'immunité

Les fortes doses par fraction ont un effet local, sur les cellules tumorales mais également un effet systémique, rare mais observé en clinique et en préclinique, sur des lésions se situant à distance de la zone irradiée. Cet effet systémique est appelé effet abscopal, du latin *ab-*, « loin de » et du grec ancien *skopos*, « la cible » : littéralement effet éloigné de la cible. En clinique, cet effet abscopal a été observé par Abuodeh *et al.* chez un total de 46 patients de 1969 à 2014 (Abuodeh *et al.*, 2016). Cet effet abscopal de l'irradiation a été observé pour des carcinomes hépatocellulaires, des adénocarcinomes (pulmonaires, œsophagiens et d'origine inconnue), un cancer de la thyroïde, un carcinome des cellules de Merkel, un cancer utérin, des lymphomes, des leucémies, des carcinomes des cellules rénales et des mélanomes (Golden *et al.*, 2013 ; Postow *et al.*, 2012 ; Stamell *et al.*, 2013 ; Hiniker *et al.*, 2012). L'effet abscopal ne serait pas déclenché par l'irradiation aux fortes doses seule, mais en association avec une immunothérapie : cette synergie permettrait de déclencher une réponse immunitaire innée et adaptative suffisamment forte pour éliminer les cellules tumorales dans le champ d'irradiation et dans l'ensemble de l'organisme (Lumniczky et Safrany, 2015 ; Lugade *et al.*, 2005 ; Lee *et al.*, 2009 ; Marciscano *et al.*, 2019) (Fig. 2).

Le microenvironnement tumoral est donc composé entre autres du stroma avec la vascularisation tumorale mais également des cellules immunitaires (Chen et Mellman, 2017 ; Tugues *et al.*, 2019 ; Jarosz-Biej *et al.*, 2019), de

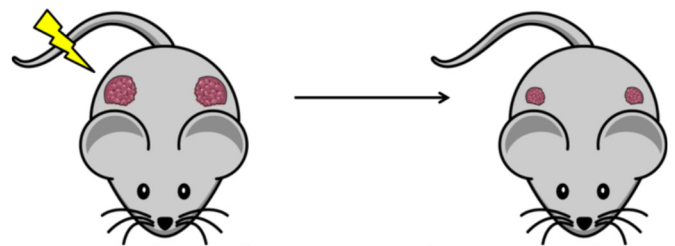


Fig. 2. Illustration de l'effet abscopal chez la souris. Les fortes doses, le plus souvent en association avec une immunothérapie, induisent une réaction immunitaire antitumorale sur la tumeur irradiée mais également sur les métastases ou autres foyers tumoraux non irradiés.

cytokines et de chimiokines. Ce microenvironnement tumoral est connu pour être immunosuppresseur à des doses utilisées en radiothérapie conventionnelle, c'est-à-dire inhibant la mise en place d'une immunité antitumorale, en induisant notamment la mort des lymphocytes (Song *et al.*, 2019). En effet, des fractions rapprochées induisent des dommages radio-induits aux cellules immunitaires, notamment les lymphocytes, ce qui compromet leur efficacité. Ces cellules ne migrent donc pas au niveau des lésions tumorales, il n'y a pas d'immunité antitumorale systémique (Lugade *et al.*, 2005). L'irradiation à forte dose par fraction déclenche une réponse immunitaire antitumorale qui a une action dans le champ d'irradiation mais également à distance du volume d'irradiation en entraînant la régression de métastases non irradiées par exemple (Finkelstein *et al.*, 2011). Ce sont les cellules immunitaires ainsi que les cytokines et chimiokines qui participent à l'effet abscopal. Les mécanismes de cette immunité antitumorale mise en place aux fortes doses restent à élucider ; cependant, certains mécanismes commencent à émerger. Ainsi,

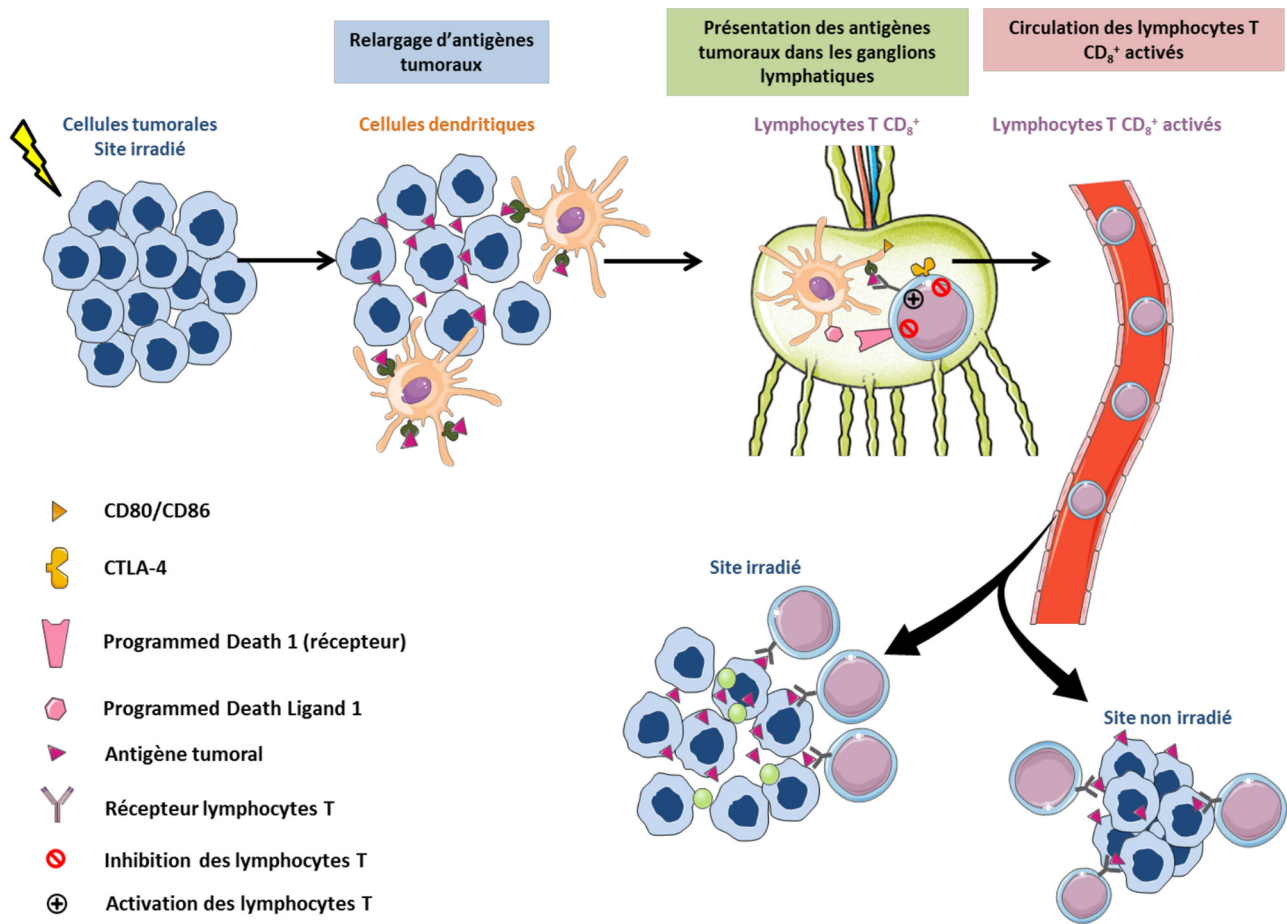


Fig. 3. Mise en place de l'immunité antitumorale aux fortes doses par fraction.

l'hypofractionnement sévère agirait comme un vaccin tumoral *in situ* : les fortes doses induisent une mort cellulaire tumorale massive qui entraîne le relargage et la circulation dans le microenvironnement tumoral d'antigènes tumeur-spécifiques (Lugade *et al.*, 2005 ; Lee *et al.*, 1999), cytokines, chimiokines et autres facteurs solubles. Ces molécules forment le *Damage-Associated Molecular Patterns* (DAMP). Le DAMP recrute les cellules dendritiques au niveau du microenvironnement tumoral ainsi que d'autres cellules présentatrices d'antigènes. L'irradiation active les cellules dendritiques qui sont maturées et qui acquièrent leur phénotype de cellules présentatrices d'antigènes (Demaria *et al.*, 2004). Les cellules dendritiques migrent alors vers les ganglions lymphatiques drainant la tumeur et amorcent les lymphocytes T CD_8^+ (lymphocytes cytotoxiques ayant une activité lytique) qui réagissent aux antigènes tumoraux. Une fois activés, ces lymphocytes T CD_8^+ migrent vers les sites tumoraux et s'y infiltrent pour exercer leur activité cytotoxique antitumorale (Fig. 3). Les travaux de Lee *et al.* et Demaria *et al.* ont montré que la déplétion en lymphocytes T CD_8^+ (par implantation de tumeurs chez des souris *nude* ou par l'utilisation d'anticorps) supprime l'effet abscopal chez la souris, que celui-ci soit induit par l'irradiation seule ou en combinaison avec un agent d'immunothérapie inhibant les checkpoints immunitaires et de l'irradiation (Lee *et al.*, 2009 ; Demaria *et al.*, 2005). Les lymphocytes T CD_8^+ sont donc essentiels à la mise en place de

la réponse immunitaire antitumorale. Ces lymphocytes T CD_8^+ antitumoraux produisent de l'interféron- γ (IFN- γ) qui joue un rôle important pour leur circulation et la reconnaissance des cellules tumorales (Dewan *et al.*, 2009 ; Lugade *et al.*, 2008).

Twyman-Saint *et al.* (2015) ont lancé un essai clinique de phase I avec 22 patients atteints de mélanome métastatique. Ils ont traité les patients avec une radiothérapie stéréotaxique sur l'une des lésions tumorales en association avec une immunothérapie consistant en l'administration d'un anticorps anti-CTLA4, connu sous le nom d'ipilimumab. L'ipilimumab est un anticorps qui interagit avec l'antigène 4 des lymphocytes cytotoxiques (CTLA4). Le récepteur CTLA4 inhibe l'activation des lymphocytes T cytotoxiques. L'ipilimumab permet donc la potentialisation de la réponse immunitaire en activant les lymphocytes T, permettant leur circulation et leur infiltration dans la tumeur. Ce traitement a déjà montré son efficacité en clinique et en préclinique (Golden *et al.*, 2013 ; Postow *et al.*, 2012 ; Stamell *et al.*, 2013, Demaria *et al.*, 2005). Certains patients sont cependant résistants à ce traitement. Cette observation clinique a été reproduite dans un modèle murin en utilisant des cellules tumorales B16-F10 de mélanome, montrant que la résistance des souris au traitement était liée à une augmentation de l'expression du gène du ligand *Programmed Death Ligand 1* (PD-L1) par les cellules tumorales. La liaison du ligand sur son récepteur *Programmed*

Death 1 (PD-1) entraîne l'inactivation des lymphocytes T. Cette surexpression de PD-L1 est associée à un épuisement des lymphocytes T. La surexpression de PD-L1 est retrouvée chez les patients résistants au traitement. L'inhibition de PD-L1 *via* un anticorps, associé à la radiothérapie stéréotaxique et au traitement par ipilimumab permet d'obtenir une réponse immunitaire *via* différents mécanismes. Ces travaux illustrent bien la complexité de la réponse immunitaire antitumorale qui peut se mettre en place après irradiation à forte dose.

Un autre mécanisme impliqué dans la réponse immunitaire antitumorale est la régulation des fragments d'ADN présents dans le cytoplasme suite aux cassures double brin radio-induites (Vanpouille-Box *et al.*, 2017). En effet, suite aux dommages radio-induits à l'ADN, des fragments peuvent se retrouver dans le cytoplasme des cellules tumorales. En activant la voie de signalisation de l'*interferon* (IFN), ceux-ci sont détectés par les récepteurs *Toll-like*, récepteurs de signaux de danger portés par les cellules immunitaires, et déclenchent la sécrétion d'interféron- β (IFN- β). L'expression de l'exonucléase Trex1 est induite par l'irradiation à partir de 12 à 18 Gy selon les lignées cellulaires cancéreuses. Cette exonucléase va débarrasser le cytoplasme des cellules cancéreuses des fragments d'ADN et donc empêcher l'activation des lymphocytes T CD $_8^+$ tumeur-spécifiques dans les ganglions lymphatiques. L'immunogénicité de la tumeur est ainsi fortement diminuée. L'effet abscopal ne peut pas se mettre en place et la tumeur progresse. Au contraire, si la dose de rayonnements reçue est en dessous de ce seuil de 12 à 18 Gy, Trex1 n'est pas induit. Les fragments d'ADN s'accumulent dans le cytoplasme des cellules tumorales et entraînent le recrutement, *via* les récepteurs *Toll-like*, des cellules dendritiques. Ces cellules amorcent ensuite les lymphocytes T CD $_8^+$. Cela est illustré par les différents protocoles testés : l'effet abscopal a été induit par un protocole administrant 3 fractions de 8 Gy, alors que les doses uniques de 20 et 30 Gy n'ont pas réussi à déclencher d'effet abscopal, les trois protocoles étant associés à l'administration d'ipilimumab. Ces travaux suggèrent l'existence d'un protocole d'irradiation optimal afin de déclencher les mécanismes nécessaires à la mise en place de la réponse antitumorale. Les doses seuil d'induction de l'expression de Trex1 pourraient guider le choix de la dose et du fractionnement de ce potentiel protocole optimal, associé à l'immunothérapie. Ces travaux confirment ceux de Dewan *et al.* sur le type de protocole de radiothérapie optimal pour potentialiser l'inhibition de CTLA4 (Dewan *et al.*, 2009). Ils ont pu mettre en évidence que le protocole administrant 24 Gy en 3 fractions (3 \times 8 Gy) était le protocole le plus efficace, suggérant donc bien l'existence d'un protocole optimal de radiothérapie stéréotaxique à associer avec l'immunothérapie pour la potentialisation de la réponse immunitaire antitumorale et potentiellement le déclenchement d'un effet abscopal.

3 Effets de l'hypofractionnement sévère sur les tissus sains

L'irradiation en conditions stéréotaxiques a pour caractéristique majeure l'irradiation de très petits volumes par rapport à la radiothérapie conventionnelle. Cette réduction de volume autorise l'application de schémas de fractionnement non conventionnels avec l'utilisation de fortes doses par fraction,

sur un étalement court et la délivrance de doses efficaces biologiques élevées (ou BED pour *Biological Effective Dose*). Ces protocoles se sont révélés d'une efficacité redoutable sur un certain nombre de tumeurs et, en particulier, sur les tumeurs bronchiques non à petites cellules de stade précoce, mais ne sont pas sans conséquence sur les tissus sains. La réduction des volumes cibles ne suffit pas à les protéger des effets secondaires parfois très invalidants.

3.1 Effets secondaires de la radiothérapie stéréotaxique pulmonaire

Le parenchyme pulmonaire est organisé en parallèle : les lobules pulmonaires, ses sous-unités fonctionnelles, fonctionnent indépendamment les uns des autres. C'est grâce à cette indépendance fonctionnelle des lobules pulmonaires que le poumon est un bon candidat pour la radiothérapie stéréotaxique. Effectivement, les organes en parallèle supportent bien les fortes doses mais sont sensibles au volume irradié. L'apparition des effets secondaires dépendra plutôt du volume recevant une certaine dose (V_{XGy}) (Blais *et al.*, 2017). La radiothérapie stéréotaxique consiste à administrer de fortes doses sur de très petits volumes. Le poumon, par son organisation fonctionnelle, tolère des « points chauds », ce qui en fait un bon candidat pour ces nouvelles modalités de traitements. Néanmoins, dans ce contexte comme en radiothérapie conventionnelle, l'exposition des organes à risque est responsable de l'apparition d'effets secondaires.

Les effets secondaires de la radiothérapie stéréotaxique pulmonaire peuvent être nombreux et concerner différentes structures. Globalement, on rapporte des toxicités au niveau du poumon sain (pneumopathie aiguë et fibrose radique pulmonaire), des douleurs thoraciques, des fractures costales, des œsophagites et des plexopathies brachiales (Kang *et al.*, 2015 ; De Rose *et al.*, 2017). Un cas particulier concerne les tumeurs centrales et ultracentrales. Une tumeur bronchopulmonaire centrale est définie comme une tumeur dont le PTV (*Planning Target Volume*) est localisé dans un périmètre de 2 cm autour de l'arbre trachéobronchique, comprenant ainsi la trachée, les deux bronches souches et l'arbre bronchique jusqu'à la bifurcation en bronches segmentaires. Un excès de toxicité a été observé en premier par Timmerman *et al.* en 2006 suite au traitement par radiothérapie stéréotaxique de tumeurs centrales (Timmerman *et al.*, 2006). De ce fait, la région thoracique, contenant la trachée, l'œsophage, les bronches souches, le cœur et les gros vaisseaux, a été labellisée comme une zone à risque, une « no fly zone » en radiothérapie stéréotaxique thoracique (Fig. 4).

Les toxicités sévères observées après traitement par radiothérapie stéréotaxique des tumeurs centrales et ultracentrales sont liées à la radiosensibilité des structures dose-limitantes centrales : la trachée, les bronches souches et lobaires, l'aorte, les veines caves, le cœur et l'œsophage. Les fortes doses sont moins bien supportées par ces organes que par le parenchyme pulmonaire. Si le consensus de l'ESTRO (*European Society for Radiotherapy and Oncology*) recommande des schémas de fractionnement de 3 \times 15 à 3 \times 18 Gy pour les tumeurs périphériques et de 4 \times 12 Gy pour les tumeurs en contact avec la paroi thoracique, il n'existe actuellement pas de recommandations claires concernant les

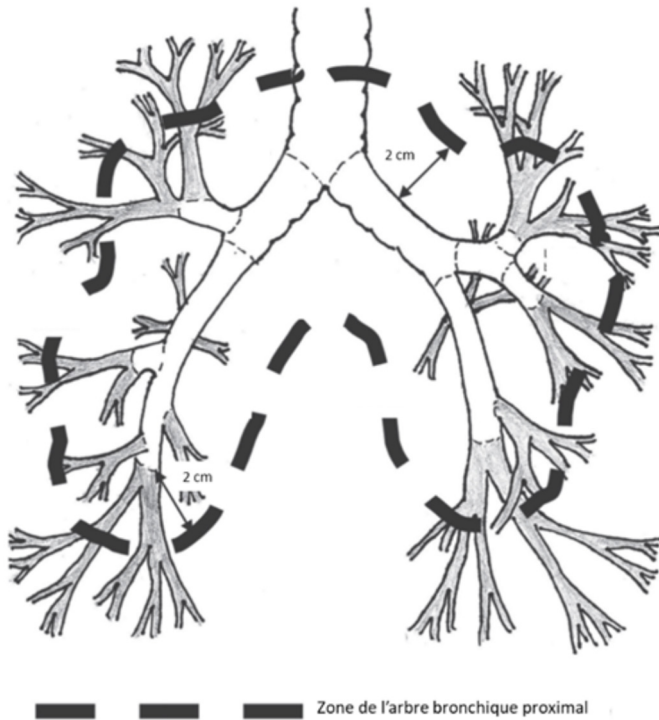


Fig. 4. La « no fly zone » en radiothérapie stéréotaxique pulmonaire : une zone de 2 cm autour de l'arbre trachéobronchique (Timmerman *et al.*, 2006 ; Chang *et al.*, 2015).

tumeurs centrales et ultracentrales. Le RTOG 0813 valide l'utilisation de la SBRT à raison de 5 fractions de 12 Gy pour les tumeurs centrales. Néanmoins, pour les tumeurs ultracentrales, il manque des données cliniques concernant les contraintes dose-volume limites à appliquer, données difficiles à obtenir étant donné l'hétérogénéité des protocoles utilisés et les difficultés dans la définition même de la « no fly zone » en fonction des centres de traitement. La tendance actuelle serait d'augmenter le nombre de fractions avec des schémas à 8 ou 15 fractions pour une dose totale de 60 Gy pour les tumeurs ultracentrales (Wu, 2019).

En dehors de ce contexte particulier des tumeurs centrales ou ultracentrales, les complications les plus fréquentes sont celles concernant le poumon sain. La pneumopathie radique et la fibrose pulmonaire peuvent être symptomatiques dans 30 % des cas et sérieuses dans 10 % des cas, avec des taux de pneumopathies de grade 2 ou 3 de près de 10 et 2 %, respectivement (Zhao *et al.*, 2016).

3.2 Pneumopathie radique et fibrose pulmonaire

La pneumopathie radique est une inflammation radio-induite locale ou diffuse du parenchyme pulmonaire induite par les dommages à l'ADN, le stress oxydatif et la mort cellulaire, conséquences de l'exposition aux rayonnements ionisants. Ses symptômes sont : une toux sèche, une dyspnée, un état fébrile et/ou des douleurs pleurales. Les mécanismes physiopathologiques de la pneumopathie radique sont liés à la réponse aux rayonnements ionisants des pneumocytes de type I, des pneumocytes de type II et des cellules endothéliales composant l'alvéole pulmonaire. Cette réponse se décompose

en différentes phases. La première phase, dite phase immédiate, se met en place quelques heures à quelques jours après l'irradiation. C'est une phase d'inflammation, avec une activation des macrophages et une infiltration lymphocytaire dans les alvéoles due à une augmentation de la perméabilité des vaisseaux sanguins (Vallard *et al.*, 2017). Cette augmentation de la perméabilité de l'endothélium se traduit également par un œdème alvéolaire. Le modèle d'irradiation en thorax entier a permis de mettre en lumière les différents mécanismes physiopathologiques impliqués dans le développement des lésions pulmonaire radio-induites, que ce soit la pneumopathie radique aiguë ou la fibrose pulmonaire (Beach *et al.*, 2018). Ainsi, après irradiation en thorax entier à 12 Gy, Rube *et al.* ont pu observer deux phases de synthèse de cytokines et chimiokines : la première entre 1 et 12 heures post-irradiation et la seconde à 8 semaines post-irradiation (Rube *et al.*, 2004). Ces travaux mettent en avant l'absence de phase de latence comme décrit en clinique avec une sécrétion immédiate de cytokines et de chimiokines qui attirent les cellules immunitaires au site de la lésion (Bledsoe *et al.*, 2017). Ces mécanismes d'inflammation auto-entretenu et d'infiltration des cellules immunitaires jouent un rôle prépondérant dans le développement des lésions pulmonaires radio-induites. Aujourd'hui, il est connu qu'une inflammation chronique ainsi qu'une lésion persistante peuvent être à la base de différentes formes de fibroses pulmonaires (Beach *et al.*, 2018). Ensuite, cette phase d'inflammation et d'infiltration progresse, des sécrétions épaisses s'accumulent à cause de la prolifération et de l'altération des cellules caliciformes et des cellules ciliées bronchiolaires. L'épithélium alvéolaire subit également des modifications avec une perte importante des pneumocytes de type I. En clinique, cette perte des pneumocytes de type I associée la prolifération des pneumocytes de type II correspondrait à la phase exsudative. Cette phase s'installe quelques semaines à quelques mois après le traitement : la perte des cellules endothéliales et des cellules épithéliales entraîne un collapsus des alvéoles et une thrombose des capillaires (Almeida *et al.*, 2013). Dans les 2 à 9 mois suivant l'irradiation, une phase intermédiaire est observée : les pneumocytes de type II continuent leur prolifération, les alvéoles sont colonisées par les fibroblastes. Durant cette phase, les mécanismes de réparation épithéliale et endothéliale continuent (Bledsoe *et al.*, 2017). Les lésions observées peuvent alors se résorber ou progresser vers une phase chronique. La pneumopathie radique connaît 3 évolutions possibles : la résolution spontanée si la lésion n'est pas trop sévère, l'aggravation en syndrome de détresse respiratoire aiguë engageant le pronostic vital, ou la chronicisation en fibrose pulmonaire radio-induite.

La fibrose pulmonaire radio-induite est la complication tardive de la radiothérapie pulmonaire. Elle se développe entre 6 mois et 2 ans après la fin du traitement. Son incidence après radiothérapie stéréotaxique est comprise entre 3 % pour l'étude de Lagerwaard *et al.* et 12 % pour l'étude de Baumann *et al.* (Lagerwaard *et al.*, 2008 ; Baumann *et al.*, 2009). Les phénomènes de dommages à l'ADN, stress oxydatif et mort cellulaire induisent un relargage important de cytokines et de chimiokines au niveau de la lésion et donc une inflammation importante, avec infiltration de cellules immunitaires, notamment les macrophages et les lymphocytes. La fibrose pulmonaire radio-induite est initiée par la destruction des

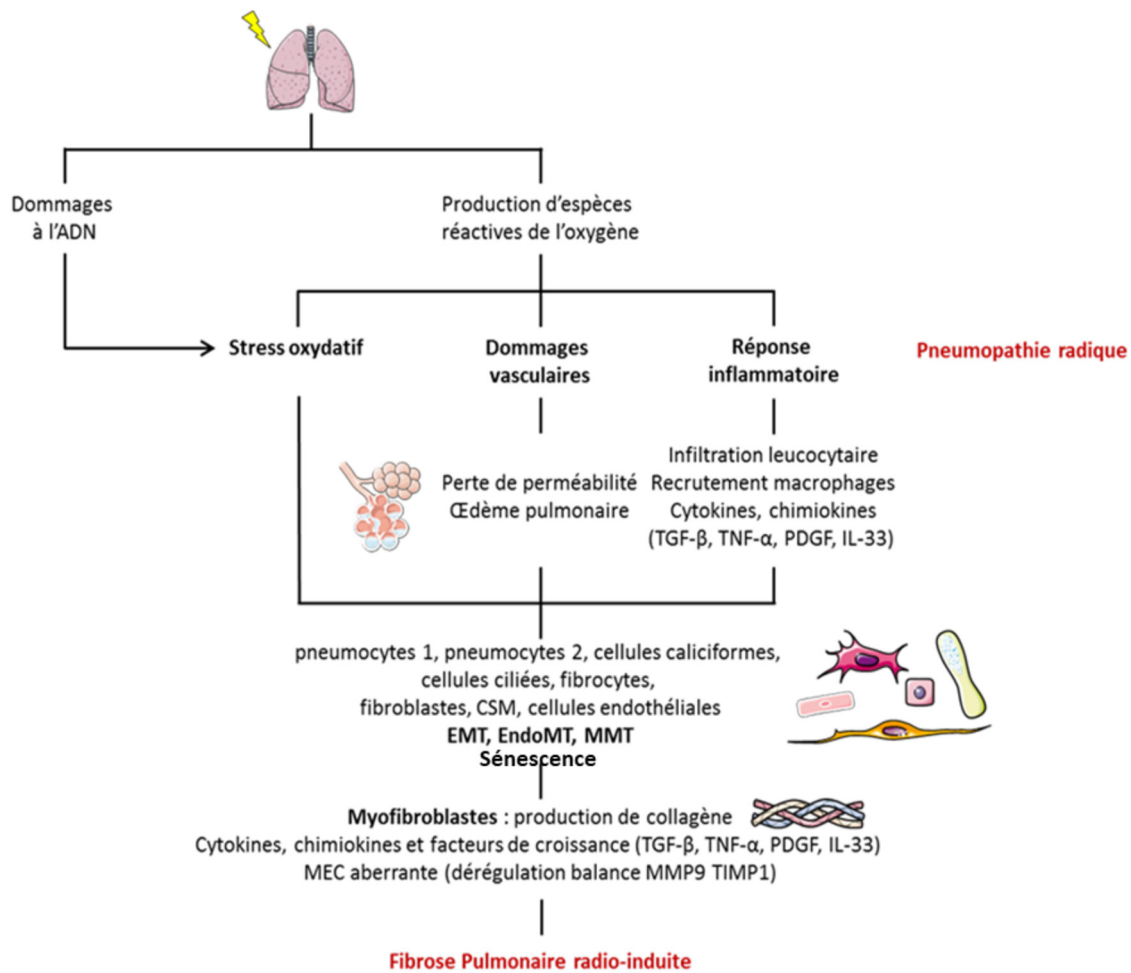


Fig. 5. Mécanismes physiopathologiques des lésions pulmonaires radio-induites : la pneumopathie radique et la fibrose pulmonaire radio-induite. CSM : cellules souches mésenchymateuses ; EMT : transition épithélio-mésenchymateuse ; EndoMT : transition endothélio-mésenchymateuse ; MMT : transition mésenchymo-mésenchymateuse ; TGF- β : *Transforming Growth Factor β* ; TNF- α : *Tumor Necrosis Factor α* ; PDGF : *Platelet-Derived Growth Factor* ; IL-33 : interleukine 33 ; MMP9 : metalloprotéinase 9 ; TIMP1 : *Tissue Inhibitor of Metalloproteinase 1*. D'après Weiskirchen *et al.* (2019) et Soysouvanh *et al.* (2020) pour l'aspect sénescence.

cellules épithéliales suite à l'exposition aux rayonnements ionisants. Elle est caractérisée par une perte de la structure normale des alvéoles ainsi que de leur fonction. De nombreux mécanismes ont été démontrés comme déterminants dans le développement de la fibrose pulmonaire radio-induite comme l'entrée en sénescence des cellules, la génération chronique d'espèces réactives de l'oxygène, le maintien d'un recrutement immunitaire, l'activation des fibroblastes en myofibroblastes et la dérégulation de la matrice extra-cellulaire ou d'autres mécanismes encore comme la transition endothélio-mésenchymateuse ou épithélio-mésenchymateuse (Citrin *et al.*, 2017). L'ensemble de ces mécanismes conduit à la perte d'élasticité des alvéoles et plus globalement du parenchyme pulmonaire, qui devient fibreux et perd sa capacité à mener les échanges gazeux (Fig. 5).

3.3 Une radiobiologie particulière ?

On ne sait pas encore aujourd'hui s'il existe une radiobiologie particulière des tissus sains en réponse à l'exposition à de fortes doses par fraction, comme il semblerait

que ce soit le cas pour les tissus tumoraux. Les études sur la réponse des tissus sains aux rayonnements ionisants et les connaissances acquises sur l'initiation et le développement des différents processus physiopathologiques décrits plus haut sont issues pour la plupart des modèles précliniques utilisant des doses uniques importantes ou des protocoles de fractionnement à fortes doses par fraction. Nous sommes donc déjà depuis des années dans la modélisation de la réponse des tissus sains aux doses ablatives. Globalement d'ailleurs, la part de l'endothélium vasculaire est importante dans la réponse des tissus sains, tout comme décrit dans le cas des réponses tumorales aux fortes doses (Milliat *et al.*, 2008). Ce qui change aujourd'hui avec l'utilisation de la SBRT, c'est la répartition de la dose au niveau des structures à risque. Malgré un ciblage très précis, une conformation précise au volume tumoral et une décroissance de dose rapide en dehors du volume cible, une certaine proportion de tissus sains, même si elle demeure faible, est exposée à une BED qui dépasse son seuil de tolérance. Cette « zone de danger » liée à la présence de tissus sains très proches de la zone à traiter est illustrée par la notion de « red shell » publiée par Fowler *et al.* (2010) et Yang *et al.*



Fig. 6. Le SARRP (*Small Animal Radiation Research Platform* [Xstrahl]). A. En configuration imagerie CBCT (*Cone Beam Computed Tomography*), avec le tube à RX (t) à droite et le détecteur plan (d) à gauche. Le lit portant la souris (flèche) tourne à 360° pour acquérir une image en 3 dimensions. B. En configuration irradiation avec la souris sur le lit d'irradiation (flèche) et le collimateur (c) fixé à la sortie du tube (t).

(2010). En radiothérapie conventionnelle, les tissus sains présents dans le champ d'irradiation reçoivent des doses similaires à celles délivrées à la tumeur. En SBRT, le volume de tissus sains irradiés est beaucoup plus restreint mais la répartition de dose au sein de ce même volume, comme au sein du volume tumoral, est beaucoup plus hétérogène qu'en radiothérapie conventionnelle. Le concept de « red shell » permet d'obtenir une idée du volume de tissus à risque recevant une dose de rayonnements suffisamment élevée pour être toxique. Ce volume dépend de la dose prescrite et du schéma de fractionnement, deux paramètres qui influencent la décroissance de dose en dehors du PTV et par conséquent le volume de la « red shell ». On se rend compte alors que probablement autant que la dose, et peut-être plus encore, le volume irradié devient dans ces conditions d'irradiation un paramètre déterminant dans la gestion du risque de développer une toxicité suite au traitement. Dans ce cas, les modélisations précliniques, qui comme évoqué plus haut utilisent depuis des années les fortes doses, devront s'adapter à ces modifications de volumes irradiés et à l'hétérogénéité des doses reçues.

4 Modélisation préclinique de la radiothérapie pulmonaire en conditions stéréotaxiques

Le modèle murin d'irradiation pulmonaire le plus fréquemment retrouvé dans la littérature est le modèle d'irradiation en thorax entier ou en hémithorax, utilisant des doses uniques allant de 12 à 30 Gy. Ces modèles ont permis, entre autres, l'étude du développement des lésions pulmonaires radio-induites (Beach *et al.*, 2020). L'irradiation du thorax est majoritairement réalisée avec des irradiateurs à rayons X de basse énergie. La souche de souris la plus couramment utilisée pour cette modélisation des lésions pulmonaires radio-induites est la souche C57bl/6, notamment pour sa capacité à développer une fibrose pulmonaire radio-induite, même si le développement de la pneumopathie radique apparaît plus tardivement et à des doses plus élevées que pour d'autres souches (Jackson *et al.*, 2011). Le modèle d'irradiation en thorax entier a permis aux radiobiologistes de mettre en lumière les différents processus physiopathologiques impliqués dans le développement des lésions pulmonaires

radio-induites (Sharplin *et Franko*, 1989; Travis, 1980). Plusieurs équipes ont démontré que les dommages à l'ADN contribuaient à la dérégulation du processus de cicatrisation, à l'inflammation chronique ou encore la sénescence (Beach *et al.*, 2017; Fleckenstein *et al.*, 2007; Mahmood *et al.*, 2014). D'autres ont mis en évidence les changements dans le profil de cytokines et de chimiokines sécrétées après irradiation (Chung *et al.*, 2016; Johnston *et al.*, 1998; Rube *et al.*, 2005). La déplétion des macrophages alvéolaires (Chiang *et al.*, 2005; Gross *et Balis*, 1978; Groves *et al.*, 2016), le rôle du stress oxydatif (Mahmood *et al.*, 2014; Kang *et al.*, 2003), le rôle de la sénescence et le *senescence-associated secretory phenotype* (SASP) (Pan *et al.*, 2017; Ao *et al.*, 2009; Johnston *et al.*, 2010), la perte des cellules club (Manning *et al.*, 2013) et des pneumocytes de type II (Citrin *et al.*, 2013) ont aussi été mis en lumière grâce au modèle d'irradiation pulmonaire en thorax entier. Ce modèle a apporté beaucoup de connaissances radiobiologiques et radiopathologiques sur le développement des lésions pulmonaires radio-induites. Cependant, il a deux limites importantes : l'exposition du cœur et des gros vaisseaux et le fait que ce type d'irradiation ne reflète pas la réalité clinique. En effet, l'irradiation en thorax entier n'est pas une pratique appliquée aux patients. De plus, avec l'apparition de la radiothérapie stéréotaxique et l'augmentation du nombre de patients traités par cette modalité, il était nécessaire de développer un modèle préclinique plus pertinent. Le premier modèle d'irradiation stéréotaxique pulmonaire chez la souris a été mis en place par l'équipe Coréenne de Cho *et al.* (Cho *et al.*, 2010; Hong *et al.*, 2014a, 2016; Jin *et al.*, 2017). Pour cela, ils ont optimisé l'irradiateur Xrad 320 pour effectuer des irradiations très localisées chez le petit animal, en utilisant un système de collimation (collimateurs de 1, 3 et 5 mm de diamètre), un système d'imagerie et un lit où est positionné l'animal. Avec ce système, les animaux sont irradiés en faisceau unique dans la direction dorso-ventrale (Cho *et al.*, 2010). Cette installation permet d'effectuer des irradiations à haut débit de dose de 5,6 à 9,8 Gy/min, avec un faisceau de petite taille et une localisation précise de la cible. Dans une première étude, les animaux ont été irradiés à des doses de 40 et 100 Gy, 40 Gy étant une dose pouvant induire une réaction du parenchyme pulmonaire sans pour autant déclencher d'effets tardifs et 100 Gy assurant une réponse tardive. La dose de 100 Gy délivrée

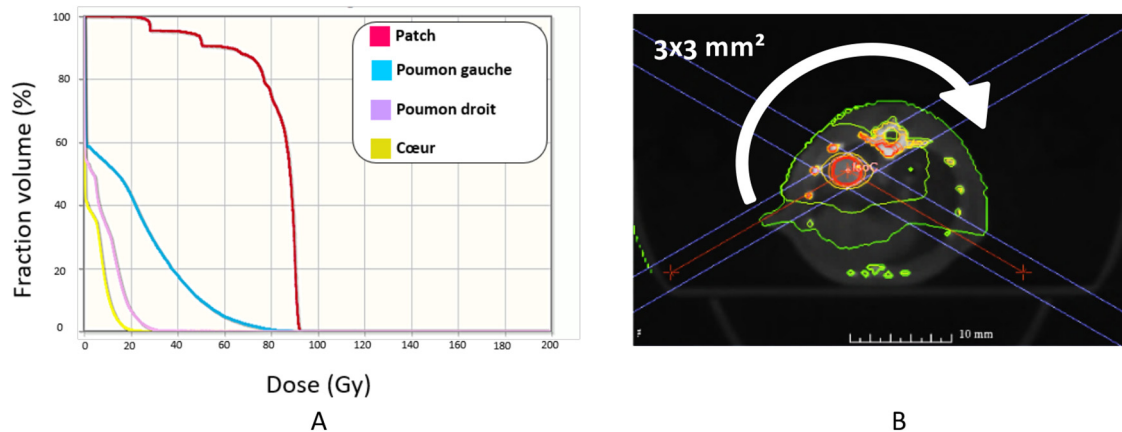


Fig. 7. Exemple d'histogrammes dose-volume (A) et de courbes isodosses (B) obtenues grâce au logiciel de planification de traitement Muriplan[®] lors d'une irradiation pulmonaire en arc à 90 Gy chez la souris, ciblée sur le poumon gauche et utilisant le collimateur $3 \times 3 \text{ mm}^2$. Images Morgane Dos Santos.

avec un collimateur de 3 mm a déclenché une fibrose pulmonaire à 8 semaines post-irradiation (temps final de l'étude). Cependant, les animaux irradiés à cette dose avec le collimateur 5 mm sont décédés dans les 2 à 3 semaines suivant l'irradiation. L'une des limites de ce modèle est le risque élevé de toxicité à la peau, étant donné la dose utilisée et l'irradiation réalisée en faisceau unique dorso-ventral. Dans leur étude, Cho *et al.* n'ont cependant pas observé de toxicité cutanée de grade 3 ou plus : ils ont tout de même observé une alopecie radio-induite chez leurs animaux, correspondant à un grade 2. Pour faire suite à cette étude, ils ont décidé de s'intéresser aux temps précoces (jours 1 à 14 post-irradiation), après irradiation avec un collimateur de 3 mm et une dose de 90 Gy (Hong *et al.*, 2014b). La dose de 90 Gy est en effet bien tolérée par les animaux et permet de développer une fibrose rapide. Ce choix de dose et de collimateur sera repris pour les études suivantes, complété par d'autres doses (20 Gy, 50 Gy) et d'autres collimateurs (1 mm, 2 mm, 5 mm, 7 mm). Kwon *et al.*, en plus de l'alopecie déjà rapportée par Cho *et al.* (2010), ont observé une radionécrose cutanée chez leurs animaux, 2 à 3 semaines post-irradiation avec un collimateur de 3 mm et une dose de 90 Gy (Kwon *et al.*, 2016). Ces études sont des études à court terme, même si la dose administrée leur permet d'observer une fibrose rapide.

Au laboratoire, la mise en place d'un modèle préclinique d'irradiation stéréotaxique faisait face à un verrou technologique : ce dernier a été levé grâce à l'acquisition du SARRP, un irradiateur du petit animal, délivrant des petits faisceaux au centre de la cible (Fig. 6).

Notre modèle préclinique d'irradiation stéréotaxique nous permet de nous rapprocher des pratiques d'irradiation en conditions stéréotaxiques réalisées en clinique. Le SARRP est équipé d'un système d'imagerie embarqué qui permet un guidage par l'image volumétrique 3D pour le ciblage et le positionnement des animaux. L'image de la souris acquise avant le traitement est transférée au logiciel de planification de traitement Muriplan[®]. Le logiciel Muriplan[®] est un système de planification de traitement semblable à ceux utilisés en clinique, adapté au SARRP et à la modélisation chez le petit animal. L'isocentre est alors positionné au centre du poumon

gauche, le collimateur sélectionné et la dose déterminée, un angle de 240° pour l'arc thérapie est déterminé et adapté à chaque souris afin d'éviter au maximum le cœur. Le logiciel de planification de traitement calcule alors la distribution de la dose et le temps d'irradiation. Le logiciel Muriplan[®] nous fournit également les histogrammes dose/volume et les courbes isodosses : des données dosimétriques importantes nous permettant de nous assurer de la précision de l'irradiation mais également de calculer les doses moyennes reçues par les différentes structures en dehors du volume cible (Fig. 7).

Le logiciel Muriplan[®] a permis de mesurer, à partir des images CBCT (*Cone Beam Computed Tomography*) acquises avec le SARRP, le volume pulmonaire de la souris, ainsi que le volume pulmonaire irradié. Le volume pulmonaire d'une souris est d'environ $0,5 \text{ cm}^3$, le volume irradié avec le collimateur $3 \times 3 \text{ mm}^2$ est d'environ $0,021 \text{ cm}^3$, soit près de 4% du volume pulmonaire de la souris. Chez l'homme, les tumeurs traitées par radiothérapie stéréotaxique ont un volume tumoral assimilé à une sphère de moins de 7 cm de diamètre, représentant 1 à 4% du volume pulmonaire. L'arc-thérapie permet de diminuer la dose à la peau et aux muscles, évitant ainsi les toxicités, tout en délivrant au volume cible une dose fibrosante. L'arc-thérapie nous permet donc de mener des études à long terme, jusqu'à 12 mois post-irradiation. Actuellement, trois projets de thèse au LRMed ont utilisé ce modèle d'irradiation pulmonaire en conditions stéréotaxiques, les thèses de Jérémy Lavigne (soutenue le 16 octobre 2017, Lavigne *et al.*, 2019), Frédéric Soysouvanh (soutenue le 24 janvier 2019, Soysouvanh *et al.*, 2020) et Annaïg Bertho (soutenue le 27 novembre 2019, Bertho *et al.*, 2020). Ces trois premières thèses ont permis au LRMed d'acquérir des connaissances précises sur la cinétique de développement des lésions pulmonaires en fonction du collimateur utilisé et de la dose administrée (Bertho *et al.*, 2020), et de débiter la compréhension de certains mécanismes impliqués dans la réponse pulmonaire à l'irradiation focale, comme le rôle de la sénescence cellulaire (Soysouvanh *et al.*, 2020) ou l'implication d'acteurs clés comme HIF-1 alpha (hypoxia-inducible factor-1 alpha, (Lavigne *et al.*, 2019). Un quatrième projet de

thèse (Sarah Braga-Cohen) a débuté en octobre 2019 sur ce même modèle, thèse qui sera soutenue fin 2022.

5 Conclusion

La radiothérapie s'est développée dans les quelques années qui ont suivi la découverte des RX. Depuis un peu plus de 120 ans maintenant, la radiothérapie a connu des avancées majeures concernant les accélérateurs délivrant la dose mais également dans les techniques d'imagerie et de positionnement des patients prenant en compte les mouvements de la tumeur et des tissus sains. Ce sont ces progrès balistiques qui ont permis d'améliorer sans cesse à la fois la qualité du contrôle tumoral et la protection des tissus sains. Les progrès balistiques permettant d'irradier de tous petits volumes ont également permis ces 10 dernières années de modifier drastiquement les schémas de fractionnement et d'appliquer des protocoles de radiothérapie avec des doses par fraction dites ablatives, de 3 à 10 fois plus élevées que lors d'un fractionnement classique. Ces nouveaux protocoles de traitement changent complètement la radiobiologie des tissus exposés, qu'ils soient tumoraux ou sains. Comme souvent, les applications cliniques précèdent les connaissances radiobiologiques. Il était, il y a peu de temps encore, impossible de modéliser chez le petit animal les conditions d'irradiation de la radiothérapie stéréotaxique, parce qu'impossible de délivrer une dose de rayonnements sur d'aussi petits volumes. Grâce aux progrès techniques là encore, il est aujourd'hui possible de réaliser des modèles précliniques d'irradiation stéréotaxique, comme réalisé au LRMed sur le poumon de souris. Ces modèles précliniques sont indispensables, tout comme les études cliniques, à la compréhension de cette nouvelle radiobiologie des doses ablatives administrées sur de petits volumes.

Enfin, les modèles précliniques devenant plus « pointus », de nombreuses questions se posent quant à leurs limites. En effet, les débuts de la radiobiologie préclinique ont vu se développer des modèles assez « simples » d'exposition, où l'effet sur la tumeur ou les lésions générées sur le tissu sain prévalaient sur la façon dont la dose avait été délivrée. Ces modèles ont néanmoins permis de grandes avancées dans la compréhension des mécanismes de réponse des différents tissus aux rayonnements ionisants. Aujourd'hui, les objectifs de la modélisation préclinique évoluent avec la complexification des protocoles cliniques. Ils se rapprochent de plus en plus des conditions de délivrance de dose quant aux volumes irradiés, même si des limites persistent en particulier concernant l'énergie des faisceaux. Aujourd'hui, les appareils permettant d'irradier de petits volumes chez l'animal délivrent des rayons X de basse énergie. Il n'est pas possible pour l'instant de réaliser de type de modèle sur des accélérateurs médicaux en raison de problèmes d'équilibre électronique et de forme des profils de dose pour les tout petits champs. Néanmoins, les nouveaux modèles développés dévoileront de manière certaine des spécificités quant à la réaction des tissus sains et tumoraux aux rayonnements ionisants à ces nouvelles modalités de traitement que sont les doses ablatives sur de petits volumes. Enfin, les nouveaux modèles précliniques devront également s'adapter aux nouvelles associations thérapeutiques comme par exemple les combinaisons radiothérapie/immunothérapie (Mondini *et al.*, 2020). La compréhension de cette « nouvelle radiobiologie » est indispensable

pour optimiser les chances de succès thérapeutique et pour ne pas aller au-devant de toxicités « inattendues » alors que les indications thérapeutiques s'élargissent et que l'irradiation stéréotaxique semble devenir la norme.

Références

- Abuodeh Y, Venkat P, Kim S. 2016. Systematic review of case reports on the abscopal effect. *Curr. Probl. Cancer* 40(1): 25–37. Epub 2015/11/20.
- Almeida C, *et al.* 2013. The role of alveolar epithelium in radiation-induced lung injury. *PLoS One* 8(1): e53628. Epub 2013/01/18.
- Ao X, Zhao L, Davis MA, Lubman DM, Lawrence TS, Kong FM. 2009. Radiation produces differential changes in cytokine profiles in radiation lung fibrosis sensitive and resistant mice. *J. Hematol. Oncol.* 2: 6. Epub 2009/02/04.
- Baumann P, *et al.* 2009. Outcome in a prospective phase II trial of medically inoperable stage I non-small-cell lung cancer patients treated with stereotactic body radiotherapy. *J. Clin. Oncol.* 27(20): 3290–3296. Epub 2009/05/06.
- Beach TA, Groves AM, Williams JP, Finkelstein JN. 2018. Modeling radiation-induced lung injury: lessons learned from whole thorax irradiation. *Int. J. Radiat. Biol.*: 1–16. Epub 2018/10/26.
- Beach TA, Groves AM, Williams JP, Finkelstein JN. 2020. Modeling radiation-induced lung injury: lessons learned from whole thorax irradiation. *Int. J. Radiat. Biol.* 96(1): 129–144. Epub 2018/10/26.
- Beach TA, Johnston CJ, Groves AM, Williams JP, Finkelstein JN. 2017. Radiation induced pulmonary fibrosis as a model of progressive fibrosis: contributions of DNA damage, inflammatory response and cellular senescence genes. *Exp. Lung Res.* 43(3): 134–149. Epub 2017/05/24.
- Bertho A, *et al.* 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. *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.* Epub 2020/04/13.
- Blais E, *et al.* 2017. Lung dose constraints for normo-fractionated radiotherapy and for stereotactic body radiation therapy. *Cancer Radiother.* 21(6–7): 584–596. Epub 2017/09/10.
- Bledsoe TJ, Nath SK, Decker RH. 2017. Radiation pneumonitis. *Clin. Chest Med.* 38(2): 201–208. Epub 2017/05/10.
- Boustani J, Grapin M, Laurent PA, Apetoh L, Mirjolet C. 2019. The 6th R of radiobiology: reactivation of anti-tumor immune response. *Cancers* 11(6). Epub 2019/06/23.
- Brown JM, Carlson DJ, Brenner DJ. 2014. The tumor radiobiology of SRS and SBRT: are more than the 5 Rs involved? *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.* 88: 254–262.
- Brown JM, Diehn M, Loo BW, Jr. 2010. Stereotactic ablative radiotherapy should be combined with a hypoxic cell radiosensitizer. *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.* 78(2): 323–327. Epub 2010/09/14.
- Carmeliet P, Jain RK. 2011. Principles and mechanisms of vessel normalization for cancer and other angiogenic diseases. *Nat. Rev. Drug Discov.* 10(6): 417–427. Epub 2011/06/02.
- Chang JY, Bezjak A, Mornex F. 2015. Stereotactic ablative radiotherapy for centrally located early stage non-small-cell lung cancer: what we have learned. *J. Thorac. Oncol.* 10(4): 577–585. Epub 2014/12/17.
- Chen DS, Mellman I. 2017. Elements of cancer immunity and the cancer-immune set point. *Nature* 541(7637): 321–330. Epub 2017/01/20.
- Chiang CS, *et al.* 2005. Compartmental responses after thoracic irradiation of mice: strain differences. *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.* 62(3): 862–871. Epub 2005/06/07.

- Cho J, Kodym R, Seliounine S, Richardson JA, Solberg TD, Story MD. 2010. High dose-per-fraction irradiation of limited lung volumes using an image-guided, highly focused irradiator: simulating stereotactic body radiotherapy regimens in a small-animal model. *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.* 77(3): 895–902. Epub 2010/06/01.
- Chung EJ, *et al.* 2016. Truncated plasminogen activator inhibitor-1 protein protects from pulmonary fibrosis mediated by irradiation in a murine model. *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.* 94(5): 1163–1172. Epub 2016/02/18.
- Citrin DE, *et al.* 2013. Role of type II pneumocyte senescence in radiation-induced lung fibrosis. *J. Natl. Cancer Inst.* 105(19): 1474–1484. Epub 2013/09/21.
- Citrin DE, *et al.* 2017. Radiation-induced fibrosis: mechanisms and opportunities to mitigate. Report of an NCI Workshop, September 19, 2016. *Radiat. Res.* 188(1): 1–20. Epub 2017/05/11.
- De Rose F, *et al.* 2017. Organs at risk in lung SBRT. *Phys. Med.* 44: 131–138. Epub 2017/04/24.
- Demaria S, *et al.* 2005. Immune-mediated inhibition of metastases after treatment with local radiation and CTLA-4 blockade in a mouse model of breast cancer. *Clin. Cancer Res.* 11(2 Pt 1): 728–734. Epub 2005/02/11.
- Demaria S, *et al.* 2004. Ionizing radiation inhibition of distant untreated tumors (abscopal effect) is immune mediated. *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.* 58(3): 862–870. Epub 2004/02/18.
- Dewan MZ, *et al.* 2009. Fractionated but not single-dose radiotherapy induces an immune-mediated abscopal effect when combined with anti-CTLA-4 antibody. *Clin. Cancer Res.* 15(17): 5379–5388. Epub 2009/08/27.
- Finkelstein SE, *et al.* 2011. The confluence of stereotactic ablative radiotherapy and tumor immunology. *Clin. Dev. Immunol.* 2011: 439752. Epub 2011/12/14.
- Fleckenstein K, *et al.* 2007. Temporal onset of hypoxia and oxidative stress after pulmonary irradiation. *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.* 68(1): 196–204. Epub 2007/04/24.
- Fowler J, Yang J, Lamond J, Lanciano R, Feng J, Brady L. 2010. A “Red Shell” concept of increased radiation damage hazard to normal tissues just outside the PTV target volume. *Radiation Oncol.* 94(3): 384. Epub 2010/02/23.
- Garcia-Barros M, *et al.* 2003. Tumor response to radiotherapy regulated by endothelial cell apoptosis. *Science* 300(5622): 1155–1159. Epub 2003/05/17.
- Golden EB, Demaria S, Schiff PB, Chachoua A, Formenti SC. 2013. An abscopal response to radiation and ipilimumab in a patient with metastatic non-small cell lung cancer. *Cancer Immunol. Res.* 1(6): 365–372. Epub 2014/02/25.
- Gross NJ, Balis JV. 1978. Functional, biochemical, and morphologic changes in alveolar macrophages following thoracic x-irradiation. *Lab. Invest.* 39(4): 381–389. Epub 1978/10/01.
- Groves AM, Johnston CJ, Misra RS, Williams JP, Finkelstein JN. 2016. Effects of IL-4 on pulmonary fibrosis and the accumulation and phenotype of macrophage subpopulations following thoracic irradiation. *Int. J. Radiat. Biol.* 92(12): 754–765. Epub 2016/08/20.
- Haimovitz-Friedman A, *et al.* 1994. Ionizing radiation acts on cellular membranes to generate ceramide and initiate apoptosis. *J. Exp. Med.* 180(2): 525–535. Epub 1994/08/01.
- Hiniker SM, Chen DS, Knox SJ. 2012. Abscopal effect in a patient with melanoma. *N. Engl. J. Med.* 366(21): 2035; author reply – 6. Epub 2012/05/25.
- Hong ZY, *et al.* 2014a. Development of a small animal model to simulate clinical stereotactic body radiotherapy-induced central and peripheral lung injuries. *J. Radiat. Res.* 55(4): 648–657. Epub 2014/02/22.
- Hong ZY, *et al.* 2014b. A preclinical rodent model of acute radiation-induced lung injury after ablative focal irradiation reflecting clinical stereotactic body radiotherapy. *Radiat. Res.* 182(1): 83–91. Epub 2014/06/18.
- Hong ZY, *et al.* 2016. Time, dose, and volume responses in a mouse pulmonary injury model following ablative irradiation. *Lung* 194(1): 81–90. Epub 2015/11/14.
- Jackson IL, Vujaskovic Z, Down JD. 2011. A further comparison of pathologies after thoracic irradiation among different mouse strains: finding the best preclinical model for evaluating therapies directed against radiation-induced lung damage. *Radiat. Res.* 175(4): 510–518. Epub 2011/02/23.
- Jarosz-Biej M, Smolarczyk R, Cichon T, Kulach N. 2019. Tumor microenvironment as a “game changer” in cancer radiotherapy. *Int. J. Mol. Sci.* 20(13). Epub 2019/07/03.
- Jin H, Jeon S, Kang GY, Lee HJ, Cho J, Lee YS. 2017. Identification of radiation response genes and proteins from mouse pulmonary tissues after high-dose per fraction irradiation of limited lung volumes. *Int. J. Radiat. Biol.* 93(2): 184–193. Epub 2016/09/21.
- Johnston CJ, Hernady E, Reed C, Thurston SW, Finkelstein JN, Williams JP. 2010. Early alterations in cytokine expression in adult compared to developing lung in mice after radiation exposure. *Radiat. Res.* 173(4): 522–535. Epub 2010/03/26.
- Johnston CJ, Wright TW, Rubin P, Finkelstein JN. 1998. Alterations in the expression of chemokine mRNA levels in fibrosis-resistant and –sensitive mice after thoracic irradiation. *Exp. Lung Res.* 24(3): 321–337. Epub 1998/06/23.
- Kang SK, *et al.* 2003. Overexpression of extracellular superoxide dismutase protects mice from radiation-induced lung injury. *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.* 57(4): 1056–1066. Epub 2003/10/25.
- Kang KH, *et al.* 2015. Complications from stereotactic body radiotherapy for lung cancer. *Cancers* 7(2): 981–1004. Epub 2015/06/18.
- Kioi M, Vogel H, Schultz G, Hoffman RM, Harsh GR, Brown JM. 2010. Inhibition of vasculogenesis, but not angiogenesis, prevents the recurrence of glioblastoma after irradiation in mice. *J. Clin. Invest.* 120(3): 694–705. Epub 2010/02/25.
- Kwon OS, *et al.* 2016. Induction of MiR-21 by stereotactic body radiotherapy contributes to the pulmonary fibrotic response. *PLoS One* 11(5): e0154942. Epub 2016/05/14.
- Lagerwaard FJ, Haasbeek CJ, Smit EF, Slotman BJ, Senan S. 2008. Outcomes of risk-adapted fractionated stereotactic radiotherapy for stage I non-small-cell lung cancer. *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.* 70(3): 685–692. Epub 2008/01/01.
- Lasnitzki I. 1947. A quantitative analysis of the direct and indirect action of X radiation on malignant cells. *Br. J. Radiol.* 20(234): 240–247. Epub 1947/06/01.
- Lavigne J, *et al.* 2019. Lung stereotactic arc therapy in mice: development of radiation pneumopathy and influence of HIF-1 α endothelial deletion. *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.* 104(2): 279–290. Epub 2019/02/01.
- Lee PP, *et al.* 1999. Characterization of circulating T cells specific for tumor-associated antigens in melanoma patients. *Nat. Med.* 5(6): 677–685. Epub 1999/06/17.
- Lee Y, *et al.* 2009. Therapeutic effects of ablative radiation on local tumor require CD8 $^{+}$ T cells: changing strategies for cancer treatment. *Blood* 114(3): 589–595. Epub 2009/04/08.
- Lindblom EK, Dasu A, Toma-Dasu I. 2019. Hypoxia induced by vascular damage at high doses could compromise the outcome of radiotherapy. *Anticancer Res.* 39(5): 2337–2340. Epub 2019/05/17.

- Lugade AA, Moran JP, Gerber SA, Rose RC, Frelinger JG, Lord EM. 2005. Local radiation therapy of B16 melanoma tumors increases the generation of tumor antigen-specific effector cells that traffic to the tumor. *J. Immunol.* 174(12): 7516–7523. Epub 2005/06/10.
- Lugade AA, Sorensen EW, Gerber SA, Moran JP, Frelinger JG, Lord EM. 2008. Radiation-induced IFN-gamma production within the tumor microenvironment influences antitumor immunity. *J. Immunol.* 180(5): 3132–3139. Epub 2008/02/23.
- Lumniczky K, Safrany G. 2015. The impact of radiation therapy on the antitumor immunity: local effects and systemic consequences. *Cancer Lett.* 356(1): 114–125. Epub 2013/09/03.
- Macia IGM. 2017. Radiobiology of stereotactic body radiation therapy (SBRT). *Rep. Pract. Oncol. Radiother.* 22(2): 86–95. Epub 2017/05/12.
- Mahmood J, Jelveh S, Zaidi A, Doctrow SR, Medhora M, Hill RP. 2014. Targeting the renin-angiotensin system combined with an antioxidant is highly effective in mitigating radiation-induced lung damage. *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.* 89(4): 722–728. Epub 2014/05/29.
- Manning CM, *et al.* 2013. Exacerbation of lung radiation injury by viral infection: the role of Clara cells and Clara cell secretory protein. *Radiat. Res.* 179(6): 617–629. Epub 2013/04/30.
- Mantyla MJ, Toivanen JT, Pitkanen MA, Rekonen AH. 1982. Radiation-induced changes in regional blood flow in human tumors. *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.* 8(10): 1711–1717. Epub 1982/10/01.
- Marciscano AE, *et al.* 2019 Immunomodulatory effects of stereotactic body radiation therapy: preclinical insights and clinical opportunities. *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.* Epub 2019/03/06.
- Milliat F, Francois A, Tamarat R, Benderitter M. 2008. Role of endothelium in radiation-induced normal tissue damages. *Ann. Cardiol. Angeiol. (Paris)* 57(3): 139–148. Epub 2008/06/27.
- Mondini M, Levy A, Meziani L, Milliat F, Deutsch E. 2020. Radiotherapy-immunotherapy combinations – perspectives and challenges. *Mol. Oncol.* Epub 2020/03/01.
- Ng QS, Goh V, Milner J, Padhani AR, Saunders MI, Hoskin PJ. 2007. Acute tumor vascular effects following fractionated radiotherapy in human lung cancer: *in vivo* whole tumor assessment using volumetric perfusion computed tomography. *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.* 67(2): 417–424. Epub 2007/01/24.
- Oh ET, *et al.* 2014. Radiation-induced angiogenic signaling pathway in endothelial cells obtained from normal and cancer tissue of human breast. *Oncogene* 33(10): 1229–1238. Epub 2013/03/19.
- Ono K, *et al.*, Eds. 2003. Selective irradiation of the blood vessels by using boron neutron capture reaction-development and its utilization. In: 12th Quadriennial Congress of the International Association for radiation Research, Australia.
- Pan J, *et al.* 2017. Inhibition of Bcl-2/xl with ABT-263 selectively kills senescent type II pneumocytes and reverses persistent pulmonary fibrosis induced by ionizing radiation in mice. *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.* 99(2): 353–361. Epub 2017/05/10.
- Paris F, *et al.* 2001. Endothelial apoptosis as the primary lesion initiating intestinal radiation damage in mice. *Science* 293(5528): 293–297. Epub 2001/07/14.
- Postow MA, *et al.* 2012. Immunologic correlates of the abscopal effect in a patient with melanoma. *N. Engl. J. Med.* 366(10): 925–931. Epub 2012/03/09.
- Rube CE, *et al.* 2004. Irradiation induces a biphasic expression of pro-inflammatory cytokines in the lung. *Strahlenther. Onkol.* 180(7): 442–448. Epub 2004/07/09.
- Rube CE, *et al.* 2005. The bronchiolar epithelium as a prominent source of pro-inflammatory cytokines after lung irradiation. *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.* 61(5): 1482–1492. Epub 2005/04/09.
- Sharplin J, Franko AJ. 1989. A quantitative histological study of strain-dependent differences in the effects of irradiation on mouse lung during the early phase. *Radiat. Res.* 119(1): 1–14. Epub 1989/07/01.
- Solesvik OV, Rofstad EK, Brustad T. 1984. Vascular changes in a human malignant melanoma xenograft following single-dose irradiation. *Radiat. Res.* 98(1): 115–128. Epub 1984/04/01.
- Song CW, Kim MS, Cho LC, Dusenbery K, Sperduto PW. 2014. Radiobiological basis of SBRT and SRS. *Int. J. Clin. Oncol.* 19(4): 570–578. Epub 2014/07/06.
- Song CW, *et al.* 2015. Indirect tumor cell death after high-dose hypofractionated irradiation: implications for stereotactic body radiation therapy and stereotactic radiation surgery. *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.* 93(1): 166–172. Epub 2015/08/19.
- Song CW, *et al.* 2019. Biological principles of stereotactic body radiation therapy (SBRT) and stereotactic radiation surgery (SRS): indirect cell death. *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.* Epub 2019/03/06.
- Soysouvanh F, *et al.* 2020. Stereotactic lung irradiation in mice promotes long-term senescence and lung injury. *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.* 106(5): 1017–1027. Epub 2020/01/29.
- Stamell EF, Wolchok JD, Gnjatic S, Lee NY, Brownell I. 2013. The abscopal effect associated with a systemic anti-melanoma immune response. *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.* 85(2): 293–295. Epub 2012/05/09.
- Steel GG, McMillan TJ, Peacock JH. 1989. The 5Rs of radiobiology. *Int. J. Radiat. Biol.* 56(6): 1045–1048. Epub 1989/12/01.
- Supiot S, Paris F. 2012. Radiobiology dedicated to endothelium. *Cancer Radiother.* 16(1): 11–15. Epub 2012/02/14.
- Timmerman R, *et al.* 2006. Excessive toxicity when treating central tumors in a phase II study of stereotactic body radiation therapy for medically inoperable early-stage lung cancer. *J. Clin. Oncol.* 24(30): 4833–4839. Epub 2006/10/20.
- Travis EL. 1980. The sequence of histological changes in mouse lungs after single doses of x-rays. *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.* 6(3): 345–347. Epub 1980/03/01.
- Tugues S, Ducimetiere L, Friebe E, Becher B. 2019. Innate lymphoid cells as regulators of the tumor microenvironment. *Semin. Immunol.* 41: 101270. Epub 2019/03/16.
- Twyman-Saint VC, *et al.* 2015. Radiation and dual checkpoint blockade activate non-redundant immune mechanisms in cancer. *Nature* 520(7547): 373–377. Epub 2015/03/11.
- Vallard A, *et al.* 2017. Medical prevention and treatment of radiation-induced pulmonary complications. *Cancer Radiother.* 21(5): 411–423. Epub 2017/06/10.
- Vanpouille-Box C, *et al.* 2017. DNA exonuclease Trex1 regulates radiotherapy-induced tumour immunogenicity. *Nat. Commun.* 8: 15618. Epub 2017/06/10.
- Weiskirchen R, Weiskirchen S, Tacke F. 2019. Organ and tissue fibrosis: Molecular signals, cellular mechanisms and translational implications. *Mol. Aspects Med.* 65: 2–15. Epub 2018/07/01.
- Wong HH, Song CW, Levitt SH. 1973. Early changes in the functional vasculature of Walker carcinoma 256 following irradiation. *Radiology* 108(2): 429–434. Epub 1973/08/01.
- Wu AJ. 2019. Safety of stereotactic ablative body radiation for ultracentral stage I non-small cell lung cancer. *Transl. Lung Cancer Res.* 8(Suppl. 2): S135–S8. Epub 2019/11/02.

- Yang J, Fowler JF, Lamond JP, Lanciano R, Feng J, Brady LW. 2010. Red shell: defining a high-risk zone of normal tissue damage in stereotactic body radiation therapy. *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.* 77(3): 903–909. Epub 2010/04/20.
- Zhao J, *et al.* 2016. Simple factors associated with radiation-induced lung toxicity after stereotactic body radiation therapy of the thorax: a pooled analysis of 88 studies. *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.* 95(5): 1357–1366. Epub 2016/06/22.

Citation de l'article : Bertho A, Dos Santos M, François A, Milliat F. 2021. Radiobiologie des très fortes doses par fraction : connaissances en 2020 et nouvelles modélisations précliniques. *Radioprotection* 56(1): 11–24