

ONCOLOGIE D2 FICHE

I. La transformation cellulaire maligne

= Ensemble des événements qui font passer une cellule d'un état normal à un état tumoral

Modifications : morphologiques, biochimiques (pertes des mécanismes régulateurs, dérèglement de l'apoptose), biologiques, capacité à induire in vivo des tumeurs chez des animaux immuno-compétents. Chaque tumeur résulte d'**évts communs** (voies régulatrices perturbées->gène ras muté, mutation du gène suppresseur p53) **et uniques** (altérations des gènes qui interviennent spécifiquement dans un type donné de tumeur).

Question : un nb limité d'altération génétique ? transposition entre in vitro et tumeurs humaines possibles ?

1. Les principales caractéristiques des cellules transformées

- Caractéristiques morphologiques (cell arrondie à noyau volumineux et plus réfringente)
- Prolifération en l'absence de facteurs de croissance (la prolifération des cell transformées ne requière plus la présence de facteurs comme la transferrine ou insuline ou EGF pour croître)
- Perte d'inhibition de contact (les cell transformées prolifèrent en s'empilant « criss-crossed » -> technique pour quantifier le nb de foyers cellulaires)
- Perte de la nécessité d'un support d'ancrage (prolifération et formation de colonies immobilisées dans le milieu semi-solide -> corrélé au potentiel métastatique)
- Capacité à induire des tumeurs chez les animaux immuno-compétents

2. Caractéristiques moléculaires des cell tumorales (classification de Hanahan et Weinberg)

- Indépendance vis-à-vis des signaux de prolifération
 - Insensibilité aux signaux anti-prolifératifs (ex : gène Rétinoblastome RB)
 - Acquisition d'une résistance à l'apoptose (disparition/inactivation de gènes-clés inducteurs de l'apoptose comme p53, expression dérégulée de gènes anti-apoptotique comme BCL-2, perte d'expression des antagonistes pro-apoptotiques comme BAX)
 - Potentiel illimité de réplication (l'interruption du processus de sénescence immortalise les cell + rôle important de la télomérase qui réactivée, permet aux cell de surmonter l'arrêt prolifératif de la sénescence)
 - Stimulation de l'angiogénèse
 - Pouvoir d'invasion et de dissémination (métastases -> nombreux mécanismes à l'œuvre)
- + Instabilité génomique (rôle du gène p53)

3. Combien d'évts sont nécessaires pour transformer une cellule ?

Les capacités de transfo sont différentes entre humains et murins (nb d'évts plus élevé chez l'humain que chez les rongeurs, taille des télomères ne varie pas chez les murins, nb de mécanismes protecteurs induisant la sénescence n'est pas le même). Nécessité de mise en couple d'oncogène qui coopèrent pour transformer les cell (c-myc/ras, E1A/ras, p53 mutée/ras).

4. Combien d'évts pour transformer une cell humaine ?

Exp de Robert Weinberg utile (transformation de cell humaines in vitro avec Ag T du virus SV-40 -> T SV-40 inactive les voies RB et p53 ce qui prévient la sénescence et conduit à l'immortalisation + rôle de l'oncogène Ha-ras qui transforme les cell immortelles).

5. La transfo cellulaire maligne : une somme d'évts génétiques et épigénétiques

Les altérations des gènes oncogènes et des gènes suppresseurs sont la conséquence d'évts mutationnels habituels -> évts génétiques. Rôle de la méthylation des îlots CpG (régions promotrices des gènes) a pour conséquence la mise au repos du gène concerné -> evt épigénétique.

6. De la cell transformée à la tumeur

In vitro : un nb limité d'évts est nécessaire et suffisant à une cell normale pour avoir un phénotype malin. Mais pour l'être humain ? -> sélection parmi les choix d'altérations possibles afin de pouvoir proliférer sans frein.

II. Mécanismes de l'invasion tumorale

= **Succession d'évts complexes débutant par des modif génétiques aboutissant à la prolifération cell incontrôlée.** Lésions dvp à partir des épithéliums->carcinome in situ intraépithéliale limité par une lame basale (atypies cytonucléaires/perte de maturation/mitoses anormales...)->franchissement de la lame basale qui se dégrade->infiltration du tissu conjonctif (stroma)->dvp du réseau vasc au voisinage (néoangiogenèse avec croissance et nutrition des élmts tumoraux)->perte du caractère cohésif des cell cancéreuses->passage dans la circulation sanguine et lymphatique->élimination par le système immunitaire mais certaines de ces cellules va coloniser les organes à distance (apparition de métastases).

1. La stroma réaction (partie difficile à comprendre)

Idée générale : pour qu'une tumeur progresse dans un tissu->besoin d'un terrain fertile avec participation des cell de l'hôte qui favorisent le processus d'invasion (remaniement de l'environnement extracell)

- La matrice extracell entourant les cell stromales et tumorales est remaniée au cours de l'invasion sous l'effet d'enzymes protéolytiques : aspartyl-protéinases (pepsine, cathepsines D et E)/cystéine-protéinases (cathepsines B, H, L)/sérine-protéinases (plasmine, élastases, cathepsine G, trypsine, thrombine)/métallo-protéinases matricielles (MMPs)->très nombreux activateurs et sous-groupes parmi ces 4 groupes d'enzymes

-Qui crée les enzymes protéolytiques ? : les cell stromales et fibroblastes (myofibroblastes) principalement. En plus, des cell « non tumorales » peuvent subir l'influence de facteurs d'origine tumorale qui en les stimulant produisent des enzymes protéolytiques (MMPs et plasmine) comme par exemple les facteurs EMMPRIN (prod de MMP 1-2-3 par les fibroblastes) ou TGFβ. Donc coopération cellulaire entre les cell tumorales et les cell stromales pour la production d'enzymes protéolytiques + coopération par la prod de facteurs de croissance par la stroma réaction (FGF-2 et HGF)->dans ce cas, les cell stromales régulent la croissance tumorale en produisant ces facteurs de croissance.

- Enfin les modif de la matrice extracell (appelées les « matrikines ») par les enzymes protéolytiques vont générer des molécules anti-angiogéniques et pro-angiogéniques (fragments moléculaires qui vont à leur tour réguler l'invasion tumorale comme par ex la lamaline 5 qui favorise le processus infiltrant)->les enzymes protéolytiques vont modifier la matrice extracell et toutes les cell qu'elle contient et ces modifications vont créer d'autres enzymes qui à leur tour vont agir (cercle vicieux...) !!!

2. Le phénotype tumoral

Caractère commun aux cell tumorales : modif des systèmes d'adhérence intercellulaire (détachement et migration facilités->métastases). A l'inverse, il est possible d'observer des phénotypes très différenciés (mésenchymateux ou endothélial)

- Complexe moléculaire qui intervient pour l'adhérence intracell : système cadhérine E/caténines (cohésion des cell épithéliales). Si modification de ce système->perturbation de l'adhérence. De plus, la désorganisation de ce système peut intervenir en voulant contrôler la progression tumorale. Les origines de ces perturbations sont très variées : mutation des gènes, hyperméthylation du promoteur, modifications post-traductionnelles... Si non détection de ce complexe dans le sang->facteur de mauvais pronostic.

- Définition du phénotype mésenchymateux : modif des systèmes d'adhérence intercell, apparition de cadhérine N, expression par les cell épithéliales de cell mésenchymateuses, enzymes protéolytiques synthétisées par fibroblastes et myofibroblastes=transition épithélio-mésenchymateuse->peut être transitoire ou pas, indique que la tumeur est très agressive, très mauvais pronostic->csq : moins de nécessité de coopération avec les cell de l'hôte, caractère migratoire prononcé, dégradation de l'environnement grâce à la prod de ses propres enzymes protéolytiques, contingent cellulaire très agressif au sein d'une tumeur.

- Autre cas possible pour les mélanomes : transition de type endothélial (et non plus mésenchymateux comme précédemment). Ces cell de caractère endothéliale expriment la VE cadhérine et forment des structures identiques à des capillaires->cell très agressives qui pourraient participer à la néoangiogenèse.

III. Vascularisation et angiogenèse tumorale

Rappel : tumeur=tissu complexe=cell cancéreuses+MEC+cell stroma+possible cell immunité+vaisseaux sanguins et lymphatiques. **Vascularisation tumorale->angiogenèse in situ (contrôlée par la tumeur elle-même >conditionne le dvp de la tumeur + détachement de cell tumorales dans le réseau vasculaire (métastases).**

1. Vascularisation intratumorale (sanguine et lymphatique)

Essentiellement de type sanguine (car dvp d'un système de type endothélial de type capillaire). Par contre, le réseau lymphatique annexé aux tissus est principalement constitué du réseau du tissu hôte intégré dans la tumeur par invasion. ->2 types : vaisseaux recrutés et de novo.

- A l'inverse d'un tissu normal, le réseau vasculaire microcirculatoire dans une tumeur est chaotique -> résistance géométrique élevée au flux sanguin avec légère diminution de pression de perfusion (débit faible et intermittent). La paroi de ces vaisseaux est anormale, peu étanche. Hétérogénéité de la microcirculation.

-> Csq : microrégions d'hypoxie intratumorale (cela induit différents gènes dont des gènes de résistance comme MRD1) avec pH intratumoral <7 + pression interstitielle élevée dans les tumeurs (rôle important dans le contrôle du passage des agents infectieux).

- Depuis la reconnaissance des capillaires lymphatiques par leur expression du VEGF R3, mise en évidence d'une lymphangiopoïèse intratumorale.

2. Angiogenèse et lymphangiogenèse

Angiogenèse=dvp de nouveaux vaisseaux à partir de vaisseaux préexistants (corps jaune ovarien)

Vasculogenèse=mise en place de la vascularisation pdt la période embryonnaire à partir des îlots vasculo-sanguins.

- Normalement, au cours de l'angiogenèse physiologique : croissance rapide du réseau microcirculatoire puis stabilisation (ce qui n'est pas le cas dans les tumeurs). Etapes : activation des cell endothéliales->dégradation de la membrane basale->invasion du stroma par les cell endothéliales en cours de prolifération->formation de colonnes cell endothéliales pleines->dvp d'une lumière.

- Mais dans une tumeur, sa nutrition et son dvp nécessitent la mise en place d'une néovascularisation et lors de l'accroissement de volume de cette tumeur, les cell tumorales libèrent des facteurs diffusibles angiogéniques. Switch angiogénique=initiation de l'angiogenèse=acquisition des cell tumorales d'un ensemble d'anomalies comme la prod de VEGF, l'activation des métalloprotéinases, l'activation oncogénique, la perte d'hétérozygotie de p53 (précède l'invasion du stroma : in situ->stade invasif).

- 2 types de facteurs libérés : angiogéniques et antiangiogéniques (dormance tumorale).

Angiogénique : VEGF, angiopoïétine, éphrine, PDGF, FGF, TGFβ

Antiangiogénique : TSP, angiostatine, facteur plaquettaire -4

Les tumeurs humaines peuvent persister en dormance pdt des années (balance entre ces 2 types de facteurs : pro et inhibiteur de l'angiogenèse).

- Dans cette lymphangiogenèse comme dans l'angiogenèse, des facteurs angiogéniques (VEGF) interviennent (mais avec des récepteurs différents selon qu'il s'agisse de cell endothéliales sanguines ou lymphatiques).

Intérêt ? Les perspectives thérapeutiques : inhibiteurs des facteurs proangiogéniques (Ac anti VEGF) ou mimant l'action antiangiogénique (TSP1, PF4, endostatine).

IV. Bases de radiobiologie

= Etude des interactions entre les rayonnements ionisants et la matière vivante et la connaissance de leurs effets biologiques cell et tissulaires précoces ou tardifs

1. Mécanismes d'action des radiations ionisantes sur la matière vivante

Irradiation->ionisations/excitations->réactions physico-chimiques (formation de radicaux libres)->réactions moléculaires->réactions biochimiques (ADN cell)->lésions biologiques (mort cell ou réparation complète ou incomplète avec mutagenèse).

- Ionisation : des molécules et des atomes des milieux traversés (effet Compton)

- Phase physico-chimique : décomposition radiolytique (ex : $A + Rx \rightarrow A^+ + e^-$) avec transfert d'énergie (rappel $1eV=1,6 \cdot 10^{-19}J$ et $1Gy=1J/kg$)

- Réactions moléculaires : dégradation de l'ADN intra cell (70% des lésions de l'ADN cell)
- Phase biochimique : ruptures simple ou double de brin de la chaîne d'ADN cell->anomalie chromosomique

2. Système de défense naturelle de l'organisme contre l'effet des radiations ionisantes

- Épargner les cibles biologiques en diminuant la concentration de radicaux libres (système de faibles poids moléculaires avec leur fonction Thiol et systèmes enzymatiques) mais système rapidement dépassés si dose d'irradiation trop importante.
- Mécanismes de réparation de l'ADN radio-lésé :
 - . Réversion du dommage in situ : élimine efficacement en une seule étape une classe spécifique de cassure simple brin radio-induite à l'aide de la polynucléotide ligase ADN ligase J, fidèle et rapide
 - . Réparation des mésappariements de bases : fidélité de la réplication normale de l'ADN assurée par un système enzymatique de corrections assistant les ADN polymérases, 4 étapes pour l'élimination des mésappariements (page 45) avec importance de ce mécanisme pour HNPCC
 - . Réparation par excision de base (BER) :
 - Processus multi-enzymatique de réparation qui prend en charge les modifications de bases comme l'oxydation, la réduction ou la fragmentation de bases (important dans les cassures simple brin)
 - . Réparation par excision de nucléotides (NER)
 - Le plus important et le plus efficace pour éliminer les lésions radio-induites créant des distorsions structurales de l'ADN. Avec 4 étapes (page 46).
 - . Réparation par recombinaison homologue (HRR)
 - Intervient lors de dommages radio-induits sévères comme les cassures double brin (préférentiellement utilisé en phase cell S et G2)
 - . Réparation par religation non homologue (réparation non fidèle)

3. Mort cellulaire radio-induite

- Mort cell différée ou reproductive (incapacité d'assumer sa descendance, le délai ne dépend que de la cinétique tissulaire)
- Mort cell immédiate (qq min à qq heures après une irradiation) mais phénomène rare
- Apoptose ou mort programmée (processus transcriptionnellement actif exigeant de l'ATP, la mutation radio-induite du gène p53 semble essentielle dans ce mécanisme de mort cell rapide)

4. Courbe de survie cell en fonction de la dose d'irradiation (dose unique)

Première courbe en 1956 par Markus et Puck. Pour de faibles doses d'irradiation, la pente initiale de la cette courbe s'explique par le fait que qq radiolésions sont d'emblée irréparables pour lesquelles l'apoptose joue un rôle prédominant. Le taux de mortalité cell par unité de dose correspond à la pente de la tangente de la courbe, elle croît lorsque la dose augmente. $\text{Log}(S) = a \cdot D + b \cdot D^2$ avec S (% de cell vivantes) et D (dose en Gy)

5. Facteur temps en radiothérapie externe

Fractionnement = nb de séances et la dose par séance d'irradiation, Etalement (ou durée) = nb de jours séparant la première de la dernière séance d'irradiation

4 mécanismes radiobiologiques sont impliqués (4 « R ») : réparation des lésions sublétales (détermination de la dose iso-effet pour la tolérance du tissu sain->courbe de dose iso-effet avec effets précoces réversibles et effets tardifs non régressifs (un fractionnement poussée de la dose totale protège contre les complications tardives)/redistribution cell (cell en phase G2 et M sont plus radiosensibles qu'en phase G1 ou S car leur contenu en ADN a doublé mais lors d'une irradiation fractionnée, après la 1^{ère} séance, il existe un effet de synchronisation partielle par blocage momentanée du cycle cell en phase G2 rendant les cell plus radiosensibles aux séances d'irradiation suivante)/repopulation cell (la prolifération clonogénique tend à contre-balancer l'effet létal des séances successives d'irradiation)/réoxygénation cell (Les cell hypoxiques sont 3 fois plus radio-résistantes aux Rx et Ry que les autres. En cas d'irradiation fractionnée un pourcentage de cell cancéreuses passent du compartiment hypoxique au compartiment oxygéné les rendant plus radiosensibles aux séances d'irradiation successives)