

Hypersensibilité Cellulaire aux Faibles Doses de Radiation

Phénomène HRS/IRR dans le Domaine des Centigrays Mécanismes Moléculaires et Modèles Explicatifs

Rapport de synthèse — December 26, 2025

Résumé

L'hyper-radiosensibilité aux faibles doses (**HRS**) décrit un phénomène par lequel les cellules présentent une sensibilité excessive à de petites doses uniques de rayonnement ionisant, typiquement inférieures à 20–50 cGy selon la lignée cellulaire.

Ce phénomène n'est pas prédit par l'extrapolation rétrograde de la réponse de survie cellulaire à partir des doses plus élevées utilisant le modèle linéaire-quadratique (**LQ**) standard.

Contents

1	Introduction	3
1.1	Caractérisation expérimentale du phénomène HRS/IRR	3
2	Historique	3
2.1	Premières études in vitro sur lignées cellulaires (1993–1997)	3
2.2	Premières Études sur des lignées spécifiques (1999–2004)	4
2.3	Publications récentes (2020–2025)	4
3	Présentation globale de l'HRS/IRR	5
3.1	Base de données expérimentales	5
3.2	Lignées Cellulaires de Hamster	6
3.2.1	V79 - Fibroblastes de Hamster Chinois	6
3.2.2	Mutants de Réparation de l'ADN (Hamster)	6
3.3	Lignées Cellulaires Humaines - Gliomes	6
3.4	Lignées Cellulaires Humaines - Carcinomes	6
3.4.1	Carcinome Colorectal	6
3.4.2	Carcinome de la Vessie	7
3.4.3	Carcinome de la Prostate	7
3.4.4	Carcinome Pulmonaire	7
3.4.5	Carcinome du Col Utérin	7
3.4.6	Carcinome Hépatocellulaire	7
3.5	Mélanomes	7
3.6	Carcinome Mammaire	7
3.7	Neuroblastome	7
3.8	Fibroblastes Humains Normaux et Pathologiques	8
3.8.1	Fibroblastes Normaux	8
3.8.2	Fibroblastes Ataxie-Télangiectasie (ATM déficients)	8
3.9	Cellules Épithéliales	8
3.10	Autres Lignées	8
3.10.1	Carcinome oesophagien	8
3.10.2	Carcinome Nasopharyngé	8
3.10.3	Cellules de Lépidoptères (Insectes)	8
3.11	Sphéroïdes Multicellulaires	9
3.12	Synthèse Statistique	9
3.12.1	Prévalence de l'HRS	9
3.12.2	Corrélations Observées	9
3.13	Lignées Clés pour les Études Mécanistiques	9
3.14	Mécanismes possibles	12
3.14.1	Approches moléculaires	13

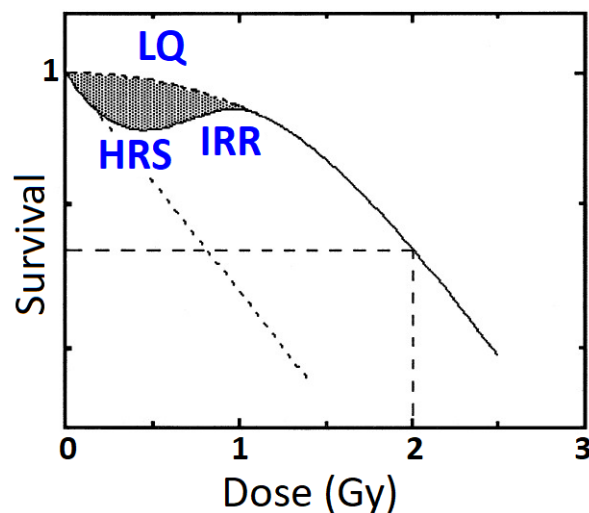
4	Pertinence possible des concepts d'IRR pour l'exposition aux radiations	13
4.1	Réponses dans les tissus/cellules normaux	14
4.2	Sensibilité individuelle	14
4.3	Protecteurs	14
4.4	Considérations sur le TEL, l'amorçage et le débit de dose	15
4.4.1	Structures et seuils	15
4.4.2	Amorçage et protéines	15
5	Tableau récapitulatif : Domaines de chevauchement	15
6	Role du Checkpoint G2/M	16
6.1	Le cycle cellulaire et la phase G2	16
6.2	Détection des dommages par ATM	16
6.3	La cascade de signalisation	18
6.4	Le problème aux faibles doses : le seuil d'activation d'ATM	20
7	Mécanisme détaillé de l'hyper-radiosensibilité	21
8	Analogie : le système d'alarme incendie	21
9	Schéma récapitulatif	22
10	Conclusion	23
10.1	Plages de doses caractéristiques	24
11	Modèles mathématiques	24
11.1	Modèle Linéaire-Quadratique (LQ)	24
11.2	Modèle de Réparation Induite (IR)	24
12	Mécanismes moléculaires	24
12.1	Rôle du checkpoint G2/M	24
12.2	Cascade de signalisation ATM	25
13	Implications cliniques	25
A	Joiner MC, Johns H (1988)	26
B	Marples B, Joiner MC (1993)	27
C	P Lambin, B Marples, B Fertil, E P Malaise, M C Joiner (1993)	28
D	E P Malaise, P Lambin, M C Joiner (1994)	28
E	P. Lambin, B. Fertil, E. P. Malaise, M. C. Joiner (1994)	29
F	B G Wouters , L D Skarsgard (1994)	30
G	Marples B, Adomat H, Koch CJ, Skov KA (1996)	30
H	B G Wouters, A M Sy, L D Skarsgard (1996)	30
I	L D Skarsgard, M W Skwarchuk, B G Wouters, R E Durand (1996)	31
J	L D Skarsgard, M W Skwarchuk, B G Wouters, R E Durand (1996)	31

1. Introduction

1.1. Caractérisation expérimentale du phénomène HRS/IRR

L'**HRS** se manifeste par une pente initiale de la courbe de survie (α_s) significativement plus élevée que celle observée à doses plus importantes (α_r), avec un rapport α_s/α_r typiquement compris entre 2 et 5.

À mesure que la dose augmente au-delà d'environ 20–40 cGy, on observe une augmentation de la radiorésistance (**IRR**) jusqu'à ce que, au-delà d'environ 1 Gy, la radiorésistance soit maximale et que la survie cellulaire suive la courbe descendante habituelle décrite par le modèle **LQ**.



Structure stylisée de la courbe d'IRR/HRS. La structure anormale aux faibles doses : l'**HRS** (jusqu'à environ 0,25 Gy) est suivie d'une radiorésistance accrue (**IRR**, jusqu'à environ 1 Gy). Cette courbe stylisée représente une lignée cellulaire de mammifère avec une **IRR** importante. **LQ** : L'ajustement linéaire-quadratique ($-\ln S = \alpha D + \beta D^2$) est représenté par la ligne pointillée. Le « déficit » par rapport à l'ajustement **LQ** est la zone hachurée. Le **SF2** est la survie à 2 Gy, utilisée par de nombreux groupes pour décrire la radiosensibilité intrinsèque. La ligne pointillée indique la survie dans les cellules où il n'y a pas d'**IRR** (lignées sensibles, neutrons, développement de l'**IRR** inhibé par un sensibilisateur), suivant l'**HRS** initiale. **Amorçage** : Les cellules qui ont été « amorcées », par exemple par une petite dose de radiation, suivie d'un temps pour produire la réponse (généralement 4–6 h), ont perdu l'**HRS**, c'est-à-dire que la réponse aux doses de défi est similaire à l'ajustement **LQ**.

2. Historique

Le phénomène a d'abord été observé *in vivo* par Joiner et Johns en 1988 [23] dans des études sur les dommages rénaux chez la souris. La première démonstration *in vitro* a été réalisée par Marples et Joiner en 1993 [36] sur les cellules V79 de hamster chinois, où ils ont montré que l'effet par unité de dose augmentait d'un facteur ~ 2 , passant de $0,19 \text{ Gy}^{-1}$ à 1 Gy à $0,37 \text{ Gy}^{-1}$ à 0,1 Gy.

2.1. Premières études *in vitro* sur lignées cellulaires (1993–1997)

2. **Marples B, Joiner MC (1993).**
The response of Chinese hamster V79 cells to low radiation doses: evidence of enhanced sensitivity of the whole cell population.
Radiation Research, 133(1):41-51.
<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/8434112/>
3. **Lambin P, Marples B, Fertil B, Malaise EP, Joiner MC (1993).**
Hypersensitivity of a human tumour cell line to very low radiation doses.
International Journal of Radiation Biology, 63:639-650.
<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/8099110/>
4. **Malaise EP, Lambin P, Joiner MC (1994).**
Radiosensitivity of human cell lines to small doses. Are there some clinical implications?
Radiation Research, 138(1 Suppl):S25-27.
<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/8146319/>

5. **Lambin P, Fertil B, Malaise EP, Joiner MC (1994).**
Multiphasic Survival Curves for Cells of Human Tumor Cell Lines: Induced Repair or Hypersensitive Subpopulation?
Radiation Research, 138(1 Suppl):S32-S36.
<https://www.jstor.org/stable/3578756>
6. **Wouters BG, Skarsgard LD(1994).**
The response of a human tumor cell line to low radiation doses: Evidence of enhanced sensitivity.
Radiation Research, 138(1 Suppl):S76-S80.
<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/8146333/>
7. **Marples B, Adomat H, Koch CJ, Skov KA (1996).**
Response of V79 cells to low doses of X-rays and negative pi-mesons: Clonogenic survival and DNA strand breaks.
International Journal of Radiation Biology, 70(4):429-436.
<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/8862454/>
8. **Wouters BG, Sy AM, Skarsgard LD (1996).**
Low-Dose Hypersensitivity and Increased Radioresistance in a Panel of Human Tumor Cell Lines with Different Radiosensitivity.
Radiation Research, 146(4):399-413.
<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/8927712/>
9. **Skarsgard LD, Skwarchuk MW, Wouters BG, Durand RE (1996).**
Substructure in the radiation survival response at low dose in cells of human tumor cell lines.
Radiation Research, 146(4):388-398.
<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/8927711/>
10. **Joiner MC, Lambin P, Malaise EP, Robson T, Arrand JE, Skov KA, Marples B (1996).**
Hypersensitivity to very-low single radiation doses: its relationship to the adaptive response and induced radioresistance.
Mutation Research, 358(2):171-183.
<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/8946022/>
11. **Marples B, Lambin P, Skov KA, Joiner MC (1997).**
Low dose hyper-radiosensitivity and increased radioresistance in mammalian cells.
International Journal of Radiation Biology, 71(6):721-735.
<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/9246186/>
12. **Wouters BG, Skarsgard LD (1997).**
Low-dose radiation sensitivity and induced radioresistance to cell killing in HT-29 cells is distinct from the 'adaptive response' and cannot be explained by a subpopulation of sensitive cells.
Radiation Research, 148(5):435-442.
<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/9355868/>

2.2. Premières Études sur des lignées spécifiques (1999–2004)

2.3. Publications récentes (2020–2025)

3. Présentation globale de l'HRS/IRR

Il existe maintenant des données sur les réponses à très faibles doses de plus de 46 lignées cellulaires humaines différentes, obtenues en utilisant à la fois des techniques de *FACS* et de localisation cellulaire microscopique.

FACS (Fluorescence-Activated Cell Sorter)

Le *FACS* est un appareil qui permet de **trier des cellules une par une** en utilisant un faisceau laser.

Principe simplifié :

1. Les cellules passent en file indienne dans un flux liquide très fin
2. Un laser analyse chaque cellule individuellement
3. L'appareil peut détecter et compter précisément chaque cellule
4. Il dépose ensuite un **nombre exact** de cellules dans chaque puits de culture

Pourquoi c'est important pour l'HRS ? Pour mesurer la survie cellulaire à **très faibles doses** (< 0.1 Gy), il faut une précision extrême :

- **Méthodes classiques** : on pipette ~ 100 cellules, mais ça peut être 80 ou 120 \rightarrow erreur de $\pm 20\%$
- **Avec le FACS** : on dépose **exactement** 100 cellules \rightarrow erreur minimale

Cette précision est **essentielle** car à faibles doses, la survie est proche de 100%. Une petite erreur sur le nombre initial de cellules fausserait complètement les résultats.

Alternative : Le **balayage microscopique** (*microscopic scanning*) : on dépose les cellules normalement, puis on les compte une par une au microscope avant l'irradiation. Ces deux méthodes ont permis de révéler le phénomène HRS dans les années 1990-2000.

L'hyper-radiosensibilité à faible dose dans les cellules humaines a maintenant été bien documentée par différents laboratoires utilisant différentes techniques d'essai et différentes conditions de croissance cellulaire, de manipulation et d'irradiation

La Figure (??) illustre l'**HRS/IRR** dans les cellules de gliome humain **T98G**. Le phénomène est généralement plus prononcé dans les lignées cellulaires humaines que dans les cellules **V79**, et la réduction beaucoup plus abrupte de la survie cellulaire aux faibles doses par rapport aux doses élevées est clairement visible. Cette comparaison est indiquée dans la Figure (??) par les pentes α_s et α_r , qui sont des paramètres de sensibilité dans l'équation mathématique de réparation induite (**IR**) utilisée pour modéliser ces types de données, comme le montre la ligne continue. Le modèle linéaire-quadratique sous-estime substantiellement l'effet des faibles doses de radiation.

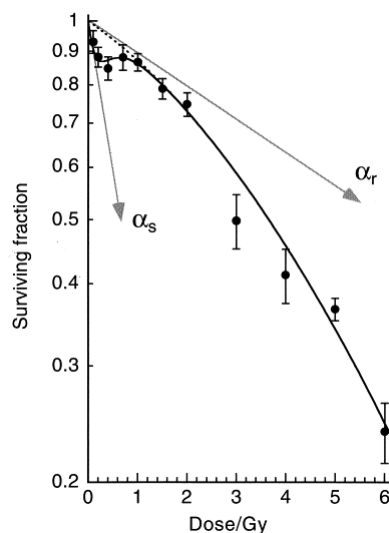


Figure 2: Survie des cellules de gliome humain **T98G** asynchrones irradiées avec des rayons X de 240 kVp, mesurée en utilisant le protocole de tri cellulaire. Chaque point de données représente 10–12 mesures. Les lignes continues et en pointillés montrent les ajustements des modèles de réparation induite (**IR**) et linéaire-quadratique (**LQ**), respectivement. Aux doses inférieures à 1 Gy, le modèle **LQ**, utilisant une pente initiale α_r , sous-estime substantiellement l'effet de l'irradiation, et ce domaine est mieux décrit par le modèle **IR** utilisant une pente initiale beaucoup plus raide α_s .

3.1. Base de données expérimentales

Fin 2025, l'étude de **HRS/IRR** est basée sur plus de 46 publications et 101 jeux de données identifiés dans la littérature (Polgár et al., 2022 [?]).

Une base de données numérisée des courbes de survie **HRS/IR** est disponible sur **STORED** :URL : <https://storedb.org/>

Cette base contient les données brutes de 101 jeux de données provenant de 46 publications, permettant la méta-analyse et la validation de modèles biophysiques.

Légende des tableaux :

- Vert = **HRS** positive (phénomène observé)
- Rouge = **HRS** négative (pas de phénomène observé)
- α_s = pente initiale (région **HRS**)
- α_r = pente extrapolée des hautes doses
- **SF2** = Fraction survivante à 2 Gy

3.2. Lignées Cellulaires de Hamster

3.2.1. V79 - Fibroblastes de Hamster Chinois

La lignée **V79** est la première lignée de mammifères dans laquelle l'**HRS/IRR** a été clairement caractérisée (Marples & Joiner, 1993[[36]]).

Lignée	HRS	α_s/α_r	SF2	Rayonnement	Référence
V79 (aérobie)	+	5-10	0.65	Rayons X	Marples 1993 [[36]]
V79 (hypoxie)	+	~5	0.85	Rayons X	Marples 1993 [[36]]
V79 - 379A	+	-	-	π -mésons	Marples 1996 [[37]]
V79	-	1	-	Neutrons haut TEL	Marples 1993 [[36]]
V79	+	-	-	$^4\text{He}^{2+}$ (58.9 keV/ μm)	2002 [[?]]

3.2.2. Mutants de Réparation de l'ADN (Hamster)

Lignée	Déficiance	HRS	IRR	Référence
XR - V15B	Ku80 (NHEJ)	+	-	Skov 1994 [[?]]
xrs5	Ku80 (NHEJ)	+	-	Skov 1994 [[?]]
UV - 20	NER (excision nucléotides)	Exp.	-	Skov 1994 [[?]]
EM9	BER (excision bases)	+	+	Skov 1994 [[?]]
CHO - K1	Type sauvage	+	+	Référence
irs1SF	Recombinaison HR	+	-	Rothkamm 2003 [[?]]
V3	DNA - PKcs	+	-	Rothkamm 2003 [[?]]

Remarque

Les cellules déficientes en **NHEJ** (**Ku80**, **DNA - PKcs**) montrent l'**HRS** mais pas l'**IRR**, suggérant que la voie **DNA - PK** est essentielle pour le développement de la radiorésistance induite

3.3. Lignées Cellulaires Humaines - Gliomes

Les gliomes représentent l'un des types tumoraux les plus étudiés pour l'**HRS/IRR** en raison de leur radiorésistance clinique.

Table 1: Lignées cellulaires de gliomes testées pour **HRS/IRR**

Lignée	HRS	α_s (Gy ⁻¹)	α_s/α_r	SF2	Référence
T98G	+	2.5-4.0	8-15	0.58-0.65	Short 1999 [?], Joiner 2001 [24]
U373	-	~ α_r	~1	0.63	Short 1999 [?]
U87 (U87MG)	+	-	>5	0.55	Short 1999 [?]
U138MG	+	-	-	-	Martin 2013 [?]
A7	+	>2	>10	0.62	Short 1999 [?]
HGL21	+	>2	>8	0.58	Short 1999 [?]
MO59J	-	-	-	très bas	DNA - PKcs déficient
MO59K	+	-	-	-	DNA - PKcs compétent

3.4. Lignées Cellulaires Humaines - Carcinomes

3.4.1. Carcinome Colorectal

Lignée	HRS	α_s/α_r	SF2	Notes	Référence
HT29	+	5-8	0.55-0.60	Bien documentée	Wouters 1996 [?], 1997 [?]
SW48	–	~1	0.25-0.30	Très radiosensible	Lambin 1996 [?]
DLD – 1	+	–	–	–	Andaur 2018 [?]

3.4.2. Carcinome de la Vessie

Lignée	HRS	α_s/α_r	SF2	Référence
RT112	+	5-7	0.50-0.55	Lambin 1994 [?]
UM – UC – 3	+	–	–	Joiner 2001 [24]

3.4.3. Carcinome de la Prostate

Lignée	HRS	α_s/α_r	SF2	Référence
DU145	+	–	0.50-0.55	Hermann 2008 [?]
PC – 3	+	–	–	Hermann 2008 [?]
LNCaP	+	–	–	–

3.4.4. Carcinome Pulmonaire

Lignée	Type	HRS	α_s/α_r	SF2	Référence
A549	Adénocarcinome	+	3-5	0.60-0.70	Dai 2009[?]
H460 (NCI-H460)	NSCLC	+	–	0.40-0.50	–
H1299	NSCLC (p53 null)	+	–	0.55	–
Calu – 1	Épidermoïde	+	–	–	–

3.4.5. Carcinome du Col Utérin

Lignée	HRS	Dc (cGy)	Notes	Référence
HeLa	+	25-40	Dose de transition variable	Harshitha 2015 [?]
SiHa	–	–	Pas d'HRS détectée	Joiner 2001 [24]

3.4.6. Carcinome Hépatocellulaire

Lignée	HRS	Mécanisme étudié	Référence
HepG2	+	Cdc25C, G2/M checkpoint	Xue 2016 [?]
SMMC – 7721	+	ATM, cycle cellulaire	Wang 2014 [?]
Hep3B	+	–	–
Bel – 7402	+	–	–

3.5. Mélanomes

Lignée	HRS	α_s/α_r	SF2	Référence
Be11	+	>5	0.55-0.60	Lambin 1996 [?]
MeWo	+	–	–	Lambin 1996 [?]
U1	+	–	–	Joiner 2001 [24]

3.6. Carcinome Mammaire

Lignée	HRS	α_s/α_r	Notes	Référence
T – 47D	+	–	Cellule reporter TGF- β 3	Edin 2015
MCF7	–	~1	Caspase-3 inactive	Krueger 2007 [?]
MDA – MB – 231	+	–	Triple négatif	–

3.7. Neuroblastome

Lignée	HRS	SF2	Référence
Lignées neuroblastome	+	Variable	Joiner 2001 [24]

3.8. Fibroblastes Humains Normaux et Pathologiques

3.8.1. Fibroblastes Normaux

Lignée	HRS	Notes	Référence
GM38	+	Fibroblastes cutanés normaux	Krueger 2007 [?]
CRL2522	+	Fibroblastes normaux	Krueger 2007 [?]
AG1522	+	Fibroblastes normaux	Al-Mayah 2022 [?]
MRC – 5	+	Fibroblastes pulmonaires	–
HX142	–	Très radiosensible	Joiner 2001 [24]

3.8.2. Fibroblastes Ataxie-Télangiectasie (ATM déficients)

Lignée	HRS	IRR	Notes	Référence
AT5BI	+	–	ATM ^{-/-}	Krueger 2007 [?]
AT2BE	+	–	ATM ^{-/-}	Krueger 2007 [?]
AT5BIVA	+	–	ATM ^{-/-}	–

Observation clé

Les cellules *AT* montrent l'*HRS* mais PAS l'*IRR*, démontrant que la protéine *ATM* est essentielle pour l'induction de la radiorésistance mais pas pour l'hyper-radiosensibilité initiale

3.9. Cellules Épithéliales

Lignée	Type	HRS	Référence
HaCaT	Kératinocytes immortalisés	–	Ryan 2009 [?]
HPV – G	Kératinocytes HPV+	–	Ryan 2009 [?]
Cellules épithéliales pulmonaires	Non malignes	+	Joiner 2001 [24]

3.10. Autres Lignées

3.10.1. Carcinome oesophagien

Lignée	HRS	Référence
Adénocarcinome oesophagien	+	Hanu 2017 [?]

3.10.2. Carcinome Nasopharyngé

Lignée	HRS	Référence
CNE-2	+	–

3.10.3. Cellules de Lépidoptères (Insectes)

Lignée	HRS	Notes	Référence
TN – 368	+	Air et azote, OER similaire	Koval 1984 [?]

3.11. Sphéroïdes Multicellulaires

Modèle	HRS	Référence
Sphéroïdes tumoraux multicellulaires	+	Guirado 2012 [?]

3.12. Synthèse Statistique

3.12.1. Prévalence de l'HRS

D'après la base de données de Polgár et al. (2022) et les revues de Joiner et al.(2001) [24] et Marples & Collis (2008) [40] :

Paramètre	Valeur
Nombre total de lignées testées	>50
Pourcentage HRS positive	~80%
Nombre de publications analysées	46
Nombre de jeux de données	101
Période couverte	1993-2021

3.12.2. Corrélations Observées

- Radiorésistance à haute dose vs HRS** : Les lignées les plus radiorésistantes à 2 Gy tendent à montrer l'**HRS** la plus marquée (rapport α_s/α_r élevé), mais cette corrélation n'est plus statistiquement significative sur les grands ensembles de données.
- Phase du cycle cellulaire** : L'**HRS** est maximale en phase **G2**, ce qui explique pourquoi les populations asynchrones montrent des niveaux d'**HRS** variables.
- Voies de réparation de l'ADN** :
 - Déficiences en **NHEJ** (**Ku80**, **DNA – PKcs**) : **HRS** sans **IRR**
 - Déficiences en **ATM** : **HRS** sans **IRR**
 - Déficiences en **BER** : **HRS** et **IRR** préservées
 - Déficiences en **NER** : Réponse exponentielle
- TEL du rayonnement** : Les rayonnements à haut **TEL** induisent moins d'**HRS/IRR** que les rayonnements à bas **TEL** pour des doses uniques.

3.13. Lignées Clés pour les Études Mécanistiques

Comparaison	HRS+	HRS–
Radiorésistance similaire	T98G , A7 , Be11	U373 , SiHa
Même origine tissulaire	HT29	SW48
Paire isogénique ATM	ATCL8 (ATM+)	AT5BIVA (ATM – –)
Paire DNA – PK	MO59K	MO59J
Caspase-3	T – 47D , A549	MCF7

La Figure 2 résume les données sur l'HRS/IRR dans les lignées cellulaires de mammifères testées à ce jour. Celles-ci comprennent le carcinome colorectal, le carcinome de la vessie, le mélanome, le carcinome de la prostate, le carcinome épidermoïde du col utérin, l'adénocarcinome pulmonaire, le neuroblastome, le gliome, une lignée épithéliale pulmonaire non maligne et une lignée de fibroblastes humains primaires. L'HRS est donc répandue. Généralement, ce sont les lignées cellulaires les plus radiorésistantes aux doses de 2 Gy qui démontrent l'HRS à faible dose la plus marquée, mais cette tendance n'est plus significative malgré les évaluations antérieures sur des ensembles de données plus limités (31). La radiosensibilité dans la région HRS de la courbe de survie (α_s) est similaire pour toutes les lignées cellulaires indépendamment de l'étendue de leur réponse aux radiations à haute dose et est généralement supérieure à 1 Gy^{-1} , ce qui est très grand.

Deux des lignées cellulaires sans réponse HRS sont très radiosensibles à 2 Gy, mais dans les lignées U373 gliome (fraction survivante à 2 Gy : $\text{SF}_2 = 0,63$) et SiHa col utérin ($\text{SF}_2 = 0,64$), l'HRS est également indétectable. Ces lignées devraient s'avérer de bons candidats pour les études sur les mécanismes, car elles peuvent être comparées à d'autres lignées cellulaires de radiorésistance à haute dose similaire mais qui expriment fortement l'HRS/IRR (par exemple, T98G, A7, Be11, HGL21, RT112).

Figure 2. Le rapport de la pente de la courbe de survie mesurée à très faibles doses (α_s) à la pente extrapolée de la réponse à haute dose (α_r) est tracé en fonction de la radiorésistance à haute dose indiquée par la fraction survivante mesurée à 2 Gy. Il y a une tendance pour les lignées cellulaires qui sont plus radiorésistantes à haute dose à démontrer le plus grand gain de radiosensibilité lorsque la dose est réduite à moins de 10 cGy, mais cela n'est pas significatif. Symboles foncés, données de cellules humaines des études du Gray Laboratory ; symboles grisés, données de cellules humaines de la Réf. 35 ; symboles ouverts, cellules V79 dans des conditions ambiantes, oxygènes et hypoxiques des Réf. 26, 109.

HRS/IRR in vivo

Il existe des preuves que l'hyper-radiosensibilité in vitro se traduit par une efficacité supplémentaire de la radiothérapie fractionnée donnée en très petites doses par fraction. Ainsi, lorsque la dose par fraction est réduite en dessous de 1 Gy, la dose totale nécessaire pour produire des dommages diminue dans la peau de souris (36), le rein (37) et le poumon (38). Cet effet de « fractionnement inverse » est précisément celui attendu du modèle HRS/IRR de survie cellulaire après de faibles doses dans les lignées cellulaires, mais, surtout,

implique également une décroissance rapide de la résistance adaptative dans ces systèmes mammifères sur la période entre les fractions. Dans ces études, cet intervalle était de 7–8 h.

Des travaux récents sur trois lignées cellulaires de gliome humain *in vitro* ont confirmé la récupération rapide de l'HRS entre des doses successives, comme le montre la Fig. 3. Cela signifie que l'HRS pourrait être exploitable en radiothérapie en utilisant de très nombreuses fractions de doses optimalement autour de 0,5 Gy, une approche que nous avons appelée « ultrafractionnement » (39). L'obtention d'un gain thérapeutique avec l'ultrafractionnement nécessite qu'une sensibilité excessive plus importante se produise dans la tumeur que dans les tissus normaux critiques. Cette quantité de sensibilité accrue aux doses plus faibles dépend du paramètre α_s/α_r montré dans la Fig. 2, mais aussi de la vitesse à laquelle la transition de α_r à α_s se produit avec la diminution de la dose.

Figure 3. Survie des cellules de gliome humain T98G asynchrones irradiées avec des rayons X de 240 kVp, mesurée en utilisant le protocole de tri cellulaire. Trois doses de 0,4 Gy ont été administrées, séparées par les intervalles indiqués. Les points de données sont la moyenne \pm erreur standard. La ligne en pointillés indique la fraction survivante prédite en supposant que l'HRS se produirait à chaque dose, calculée en utilisant la réponse montrée dans la Fig. 1. La ligne continue indique la survie cellulaire mesurée après une dose unique de 1,2 Gy, c'est-à-dire intervalle = 0. Ces données montrent que l'HRS récupère, à condition qu'un intervalle de plus de 3 h soit laissé entre les doses successives ; l'augmentation apparente de la survie cellulaire au-delà de 4 h est un artefact dû à la prolifération cellulaire (41).

Le tissu normal du « pire cas » testé jusqu'à présent est le rein de la souris (37), et si cela est comparé à de nombreuses lignées de gliome montrées dans la Fig. 2, les prédictions sont prometteuses. Par exemple, si T98G était la tumeur cible avec le rein comme tissu normal critique, 141 fractions de 0,5 Gy par fraction pour un total de 70,5 Gy seraient équivalentes à 117 Gy en fractions de 2 Gy pour la tumeur et 60 Gy en fractions équivalentes de 2 Gy pour le tissu normal. C'est un gain thérapeutique global de presque 200%.

L'HRS/IRR et la réponse adaptative sont-ils des phénomènes homologues ?

Si la réponse adaptative et l'HRS/IRR étaient des conséquences des mêmes mécanismes sous-jacents, après une petite dose de conditionnement (ou « d'amorçage »), il ne devrait pas y avoir d'HRS en réponse à une seconde dose de défi. Dans les cellules de hamster V79, de petites doses d'amorçage de rayons X ont induit une résistance à une dose de « défi » de radiation donnée quelques heures plus tard (40). Cette adaptation était dose-dépendante, avec des doses d'amorçage de 20 cGy étant plus efficaces pour abolir l'HRS de la dose de défi que des doses d'amorçage plus élevées. L'induction d'une radiorésistance accrue après des doses uniques de rayons X dans les cellules V79 était inhibée par le cycloheximide, ce qui démontre le besoin de synthèse protéique dans le développement de l'IRR (40). Le cycloheximide inhibe également la réponse adaptative dans la même lignée cellulaire, illustrant d'autres similitudes entre les deux phénomènes de résistance induite.

Dans ces expériences avec les cellules V79, 4–6 h étaient nécessaires pour une induction complète de la résistance, et un retour à l'état hypersensible se produit plus tard. Cependant, dans les lignées cellulaires humaines HT29, RT112, T98G, U87 et A7, cette cinétique est beaucoup plus rapide, et un retour complet à un état hypersensible se produit dans les 3–6 h suivant une petite dose initiale (41). Cette décroissance rapide de la radiorésistance induite explique l'effet d'une exposition répétée à de très faibles doses, comme dans les études sur les tissus normaux décrites ci-dessus, dans lesquelles chaque traitement de radiation successif doit produire la réponse hypersensible pour dériver un effet accru du schéma global. Le retour plus rapide à l'HRS dans les lignées cellulaires humaines testées jusqu'à présent est une preuve que l'HRS/IRR pourrait ne pas être liée à la réponse adaptative où ces cinétiques sont beaucoup plus longues. Pour les cellules HT29, Wouters et Skarsgard (42) ont conclu que l'IRR est effectivement distincte de la réponse adaptative.

Le retour rapide à l'HRS après une dose initiale implique également qu'une exposition continue, très prolongée à des débits de dose inférieurs à environ 10 cGy par heure résulterait en une réponse létale hypersensible. Nos tests préliminaires dans la lignée cellulaire T98G ont produit des preuves pour soutenir cette hypothèse. En résumé, bien que l'HRS/IRR ait certaines similitudes avec la réponse adaptative, il existe également des contradictions. La question de savoir si les deux phénomènes ont un mécanisme commun reste à résoudre.

Mécanismes sous-jacents à la radiorésistance induite

Preuves de la réparation de l'ADN

À de faibles doses uniques (<10 cGy), où l'HRS domine, les cellules peuvent être plus de 20 fois plus sensibles qu'à des doses supérieures à 1 Gy (qui déclenchent l'IRR), où les mesures de la mort cellulaire induite par radiation sont habituellement faites. Pour les lignées cellulaires testées jusqu'à présent, l'ampleur de ce changement de radiosensibilité sur le premier gray est largement corrélée avec la radiorésistance intrinsèque aux doses plus élevées (voir Fig. 2). De plus, l'hyper-radiorésistance aux faibles doses uniques (par rapport aux doses >1 Gy) n'est pas observée avec certaines lignées cellulaires très « sensibles », par exemple SW48 et HX142. Si ce changement reflète des mécanismes de réparation induits comme proposé ci-dessus, alors la radiosensibilité intrinsèque (aux doses de 1 Gy et plus) pourrait être liée à la capacité de réparation induite des cellules.

Il existe des preuves accumulées que la radiorésistance induite, déduite des Fig. 1 et 2, et les réponses adaptatives à de petites doses de conditionnement de radiation, peuvent toutes deux être dues à une capacité de réparation accrue ou à une fidélité de réparation mais sur des échelles de temps très différentes comme noté dans la section précédente. Par exemple, la réponse adaptative dans les lymphocytes est bloquée par le 3-aminobenzamide (43), suggérant que les voies de réparation impliquant la poly(ADP-ribose) polymérase (PARP) pourraient être impliquées. Le 3-aminobenzamide bloque également le développement de l'IRR dans les études de survie à dose unique dans les cellules V79 (44), de sorte que la réponse aux radiations continue de suivre le modèle hypersensible à faible dose jusqu'à des doses plus élevées.

Des preuves directes que la réparation peut être induite par des dommages à l'ADN proviennent d'études mesurant la réactivation de virus endommagés par radiation (par exemple, adénovirus 5) par les mécanismes de réparation de l'ADN d'une cellule hôte mammifère infectée ultérieurement. Les cellules hôtes ne sont généralement pas irradiées, donc le critère d'évaluation est un test fonctionnel uniquement de la réparation et de la fidélité de réparation de la cellule hôte (45). Cependant, si les cellules hôtes sont prétraitées avec de petites doses d'UV (46) ou de rayons gamma (47), une capacité accrue à réactiver le virus endommagé peut être mesurée par rapport aux cellules hôtes non traitées. Récemment, Francis et Rainbow (48) ont rapporté que le traitement UV résulte en une réparation induite de l'ADN endommagé par UV dans le brin transcrit des gènes actifs par l'amélioration de la réparation couplée à la transcription.

En support supplémentaire de l'implication de la réparation, le mutant rad52 de *Saccharomyces cerevisiae*, qui est déficient dans la réparation par recombinaison, ne montre pas de réponse adaptative (49). Dans le contexte de l'HRS/IRR, Skov et al. (50) ont mesuré la réponse à faible dose de 3 lignées cellulaires de hamster déficientes dans la réparation de l'ADN, comparées à leurs lignées parentales. La lignée déficiente dans la réparation des cassures double-brin dérivée de V79 (XR-V15B) a montré une réponse de survie purement exponentielle sans radiorésistance accrue (IRR) dans la plage de zéro à un demi-gray comparée au type sauvage V79B. La lignée cellulaire XR-V15B est déficiente dans la sous-unité Ku80 du complexe DNA-PK qui répare les cassures double-brin de l'ADN (51). La lignée UV-20, qui est déficiente dans la réparation par excision de nucléotides, a également semblé répondre exponentiellement sans preuve de radiorésistance induite. Cependant, la lignée déficiente dans la réparation par excision de base EM9 a montré une certaine hyper-radiorésistance à faible dose et une radiorésistance induite, suggérant que l'HRS/IRR pourrait être liée aux mécanismes de réparation des cassures double-brin et de l'excision de nucléotides.

Le support d'un lien direct entre la radiorésistance induite et la réparation des cassures double-brin de l'ADN provient de Wojewodzka et al. (52) dans des études avec des lymphocytes humains et d'Ikushima et al. (53) dans des études avec des cellules V79. Tous deux ont indiqué que de petites doses de conditionnement de rayons X ou de peroxyde d'hydrogène conduisent à une réunion plus rapide et

plus complète des cassures double-brin de l'ADN après exposition à une dose de défi plus élevée de radiation plusieurs heures plus tard. Récemment, Robson et al. (54) ont décrit un nouveau gène, DIR1, qui est transitoirement réprimé après exposition à de faibles doses de radiation. Ils postulent que le gène DIR1 a un rôle dans la radiorésistance induite par un mécanisme qui augmente le taux de réparation de l'ADN.

Des preuves supplémentaires convaincantes liant la réparation des cassures double-brin de l'ADN à l'HRS/IRR proviennent récemment du Laboratoire de Bourhis à l'Institut Gustave Roussy, France. Dans un essai fonctionnel mesurant l'activité du complexe DNA-PK, une diminution marquée de l'activité de DNA-PK a été trouvée dans six lignées cellulaires présentant l'HRS (55). En revanche, une augmentation de l'activité de DNA-PK a été observée pour les quatre lignées cellulaires qui ne présentaient pas d'HRS.

Preuves contre l'apoptose et le retard du cycle cellulaire

Nous avons testé deux autres hypothèses pour expliquer l'HRS/IRR. Premièrement, l'HRS pourrait refléter l'apoptose (d'où une haute sensibilité) aux faibles doses comme moyen d'éliminer les cellules génomiquement instables de la population ; à mesure que la dose augmentait, l'apoptose serait régulée à la baisse pour permettre la survie de la population cellulaire comme priorité. Dans une gamme de lignées cellulaires démontrant l'HRS/IRR, nous n'avons trouvé aucune preuve pour soutenir cette hypothèse (56). De plus, dans 10 lignées cellulaires de réponse HRS/IRR différente, Vaganay-Juéry et al. (55) ont montré que le niveau de DNA-PK est inchangé dans les cellules irradiées avec soit 0,2 soit 0,5 Gy. Ces données plaident donc également contre l'apoptose comme mécanisme sous-jacent principal de l'HRS/IRR, car le clivage du complexe DNA-PK est connu pour être un marqueur de l'apoptose (57).

Deuxièmement, le retard du cycle cellulaire augmente avec la dose dans de nombreuses lignées cellulaires ; cela impliquerait un temps disponible plus long pour la réparation avec des doses plus importantes et donc plus de sensibilité aux doses plus faibles. Cependant, dans une gamme de lignées cellulaires, nous n'avons trouvé aucune corrélation cohérente entre l'HRS/IRR et une relation retard du cycle cellulaire vs dose. Cela est parallèle à des conclusions similaires des travaux avec des systèmes non-mammifères revus ci-dessus.

Différentes lésions de l'ADN comme événements déclencheurs

Le traitement d'amorçage ou de conditionnement avec de petites doses de rayons γ du ^{60}Co protège les fibroblastes humains contre des doses ultérieures de rayons X (58). Nous avons observé une radioprotection similaire après un traitement d'amorçage avec des rayons X dans les cellules V79 (40). Cependant, les études de survie des cellules de mammifères avec des doses uniques (32, 59) indiquent que les radiations à haut TEL sont moins capables d'induire une radiorésistance que les rayons X à des niveaux similaires de mort cellulaire. Dans la levure, de petites doses de conditionnement de neutrons sont moins efficaces que les rayons X pour produire une protection adaptative contre des expositions ultérieures importantes aux rayons X (8).

Pourtant, Marples et Skov (60) ont rapporté que des doses de 20 cGy de neutrons à haut TEL (d(4)-Be) pouvaient produire une résistance adaptative (double dosage) à des doses de défi ultérieures de 1 Gy de rayons X dans les cellules V79 et que cette adaptation était au moins aussi importante que celle induite par des doses de 20 cGy de rayons X. Cette contradiction apparente avec l'absence d'HRS/IRR notée dans les travaux précédents avec des doses uniques de neutrons dans cette lignée cellulaire peut être résolue en considérant que la réponse globale de ces cellules aux neutrons est extrêmement abrupte, insignifiquement différente d'une relation linéaire entre le log de la survie et la dose. Dans les expositions à dose unique, par conséquent, les cellules sont tuées par des lésions complexes sur lesquelles la réparation est largement inefficace, et donc une résistance accrue ne peut pas être détectée après irradiation à haut TEL par un essai qui évalue un critère de survie clonogénique. Cependant, dans les cellules qui ont survécu à une petite dose de neutrons, le mécanisme est activé, et ces cellules sont effectivement adaptées aux doses ultérieures de radiation à TEL plus faible, où la réparation est importante pour déterminer la réponse.

De petites doses de peroxyde d'hydrogène, ainsi que de rayons X, peuvent induire une protection contre des doses ultérieures de rayonnement ionisant, soutenant la possibilité d'espèces oxydatives ou de cassures simple-brin (ssb) comme inducteurs (40, 61). De plus, le traitement d'amorçage avec du cisplatine peut induire une protection contre une irradiation ultérieure, malgré l'incapacité du cisplatine à causer directement des cassures des brins d'ADN. Cependant, la réparation des lésions de l'ADN induites par le cisplatine peut résulter en la production de cassures des brins d'ADN. En revanche, des traitements d'amorçage de 0,25 cGy de rayons γ , mais pas 5 cGy, pouvaient induire un effet protecteur à des doses ultérieures faibles de cisplatine dans une lignée cellulaire de carcinome épidermoïde humain (62). Cette lignée cellulaire présente une hyper-radiosensibilité à faible dose et une résistance accrue à des concentrations plus élevées de doses uniques de cisplatine, un modèle de survie qui correspond à l'HRS/IRR (62). En résumé, après des expositions uniques, les dommages par les radicaux libres et les radiations à bas TEL pourraient être particulièrement bons pour induire une radioprotection comparés aux dommages « groupés » produits par les radiations à haut TEL (60), mais dans les expériences de double dosage, les deux sont également efficaces.

Preuves de l'implication de voies de réparation cellulaires spécifiques

Les systèmes qui surveillent et signalent les dommages à l'ADN sont hautement régulés pour conserver l'intégrité de l'ADN pendant la réplication. Ils assurent que les brins d'ADN ne sont pas cassés et que les enzymes nécessaires sont présentes pour le passage d'une phase du cycle cellulaire à une autre (63). Ces systèmes sont étroitement interreliés avec ceux qui détectent les cassures d'ADN non programmées (64). Les dommages à l'ADN simple-brin sont normalement rapidement et efficacement réparés par la réparation par excision de base (65) et ont donc été considérés comme non critiques dans l'inactivation cellulaire induite par radiation. Une seconde voie de réparation par excision, la réparation par excision de nucléotides, a également été pensée comme n'ayant pas de rôle majeur dans la réparation des dommages à l'ADN induits par radiation (66).

En revanche, une cassure induite par radiation sur les deux brins d'ADN à un seul site (cassure double-brin de l'ADN ou DSB) est considérée comme difficile à réparer et est donc considérée comme la lésion première dans l'inactivation induite par radiation. L'échec à réparer (ou la mauvaise réparation) des cassures double-brin de l'ADN induites par radiation est une cause potentielle de mort cellulaire. La signification établie des DSB dans l'inactivation cellulaire induite par radiation donne crédit à l'hypothèse présentée plus tôt que la réparation des cassures double-brin est importante dans le phénomène de résistance induite, et donc l'absence d'une telle réparation serait caractéristique de l'HRS.

Un certain nombre de mécanismes existent pour la réparation des cassures double-brin de l'ADN. Dans les organismes inférieurs, la recombinaison homologue domine. Chez les eucaryotes, les cassures double-brin de l'ADN peuvent être réparées par au moins trois voies : la réparation par recombinaison homologue, la jonction d'extrémités non homologues (NHEJ) dépendante de DNA-PK et la jonction d'extrémités par répétitions directes (revu dans 67, 68). Dans les cellules de mammifères, la plupart des cassures double-brin de l'ADN sont réparées par NHEJ. Les principaux gènes impliqués dans la NHEJ codent pour les trois composants du complexe de protéine kinase dépendante de l'ADN (DNA-PK) et la protéine XRCC4. DNA-PK englobe un composant de ciblage de l'ADN hétérodimérique de Ku (sous-unités de 70 et 80 kD) et le composant catalytique DNA-PKcs (69).

Nos données sur les cellules V79 impliquent DNA-PK dans le développement de la résistance induite (70), tout comme les travaux de Vaganay-Juéry et al. (55) discutés ci-dessus. De plus, l'étendue de l'HRS/IRR dépend également de la phase du cycle cellulaire (34) comme le rapporte la régulation de l'activité de DNA-PK, mais contrairement aux niveaux de Ku70 et Ku80 qui restent inchangés tout au long du cycle cellulaire (71, 72). De plus, la lignée cellulaire XR-V15B est déficiente dans la sous-unité Ku80 du complexe DNA-PK et ne présente pas de réponse IRR (voir plus haut). DNA-PK a été proposée comme un capteur de dommages (initialement via la liaison de Ku à l'ADN suivie du recrutement de DNA-PKcs) qui initie une cascade de phosphorylation comme signal « d'alarme » menant à la liaison de la protéine XRCC4 et de la ligase IV (73).

L'importance du processus NHEJ dans la réparation des dommages à l'ADN induits par radiation est démontrée par l'extrême radiosensibilité des lignées cellulaires déficientes dans cette voie de réparation. La lignée cellulaire mutante *xrs5* manque de Ku80 (74). Pourtant, l'extrême radiosensibilité de *xrs5* peut être partiellement surmontée par transfection avec le gène Ku80 humain (75). La lignée cellulaire de gliome malin humain radiosensible MO59J n'exprime pas la protéine DNA-PKcs et est donc déficiente dans la réparation des cassures double-brin de l'ADN (76). Les cellules MO59J sont similairement radiosensibles à *xrs5* et ~10 fois plus sensibles qu'une lignée cellulaire correspondante compétente pour DNA-PK MO59K obtenue du même spécimen de biopsie de gliome que MO59J (77). En revanche, la base sous-jacente de l'extrême radiosensibilité des cellules AT est pensée impliquer une mauvaise réparation des cassures double-brin de l'ADN plutôt qu'une capacité réduite à rejoindre les cassures double-brin (74, 78).

L'importance de la voie DNA-PK dans la réparation des dommages induits par radiation est rapportée comme réduite avec l'augmentation du TEL, menant à la suggestion que la voie DNA-PK pourrait être moins critique dans la réparation des lésions plus complexes induites par les particules à haut TEL (79). De façon intéressante, les expériences de survie à dose unique avec des cellules V79 irradiées avec des π -mésons de l'installation TRIUMF à Vancouver ont indiqué une correspondance entre le TEL et l'IRR (60) ; ceci est cohérent avec l'hypothèse que DNA-PK est critique pour l'IRR puisque des doses uniques de radiation à haut TEL sont de pires inducteurs de l'IRR que de petites doses de radiation à bas TEL (60, 80). Une hypothèse est que les cassures double-brin de l'ADN et la voie de réparation NHEJ jouent un rôle premier dans la résistance induite, et les réponses HRS/IRR disparates reflètent des différences dans la NHEJ (ou ses composants constitutifs) entre les lignées cellulaires.

L'existence de l'IRR reflète-t-elle des changements dans l'organisation de l'ADN induits par radiation ?

La structure de la chromatine et l'organisation chromosomique sont maintenant acceptées comme des mécanismes de contrôle clés dans la réplication de l'ADN, la transcription et les processus associés tels que la différenciation et la progression du cycle cellulaire. Il devient également clair que l'induction et le traitement des dommages à l'ADN sont similairement influencés par les structures d'ordre supérieur de l'ADN. Les exemples incluent l'effet radioprotecteur majeur des protéines associées à la chromatine telles que les histones (81–84), l'effet de l'organisation de la chromatine dans la génération de dommages groupés à l'ADN (85–87), la corrélation entre les changements de structure de la chromatine liés au cycle cellulaire et au traitement anisotonique et les changements de sensibilité aux radiations (83, 88–92), la réparation accrue dans les régions transcrites vs non transcrites (93–96), et les variations dans la formation d'aberrations chromosomiques au sein des régions chromosomiques euchromatiques et hétérochromatiques (97–99).

Les lignées cellulaires et les phénotypes radiosensibles ont souvent des altérations associées dans la structure de la chromatine. De tels changements sont observés à la fois dans la morphologie nucléaire et par des essais biophysiques et biochimiques (100–104). Il est possible, par conséquent, que le nombre croissant de cassures des brins d'ADN induites à mesure que la dose augmente sur la plage de 0–1 Gy génère des changements conformationnels de l'ADN qui déclenchent une radiorésistance accrue. Un tel processus pourrait conduire à l'induction de processus de réparation de l'ADN en soi ou permettre un meilleur accès des enzymes de réparation aux sites d'ADN endommagé, permettant la réparation. Quel que soit le mécanisme correct, une survie cellulaire accrue en résulte.

Note finale : implications de l'HRS/IRR pour le risque de cancer

L'existence de l'HRS dans la réponse de survie cellulaire implique que le risque de cancer provenant de petites expositions aiguës aux rayonnements ionisants pourrait être inférieur aux estimations actuelles, si le résultat de l'HRS était de protéger la population cellulaire des événements mutationnels et initiateurs dans certaines cellules en éliminant ces cellules de la population. Ainsi, l'HRS serait une réponse protectrice au niveau de l'organisme. Pour que cela se produise, il faudrait que l'hyper-radiosensibilité à la mutation suite à une exposition à faible dose soit inexistante ou présente avec un différentiel entre la sensibilité à faible et haute dose qui soit inférieur à celui de l'HRS pour la mort cellulaire, montré dans la Fig. 2.

Plusieurs articles passent en revue la dépendance de la fréquence de mutation au débit de dose (105–107) et le phénomène de réponse adaptative mutagène par lequel les cellules pré-exposées à de très petites doses de radiation pourraient présenter une sensibilité moins prononcée à la mutation suite à une exposition ultérieure à haute dose comparées aux cellules non pré-exposées (108). Un effet inverse du débit de dose, avec des expositions continues typiquement inférieures à 10 cGy par heure induisant une fréquence de mutation plus élevée que des doses similaires données à des débits de dose plus élevés, a été rapporté dans des lignées cellulaires de rongeurs et humaines. Cependant, ce phénomène est controversé. Il n'a pas été vu universellement même dans des études utilisant les mêmes lignées cellulaires et critères d'évaluation. La plupart des études ont utilisé soit le locus *hprt* soit le locus *tk*, et il reste à voir si des effets inverses du débit de dose peuvent être observés dans des loci critiques associés aux oncogènes ou aux gènes suppresseurs de tumeurs. La progression du cycle cellulaire ne peut pas être ignorée dans les études avec des expositions continues prolongées, et là où des effets inverses du débit de dose pour la mutation ont été rapportés, les effets de la progression du cycle cellulaire n'ont pas été définitivement exclus.

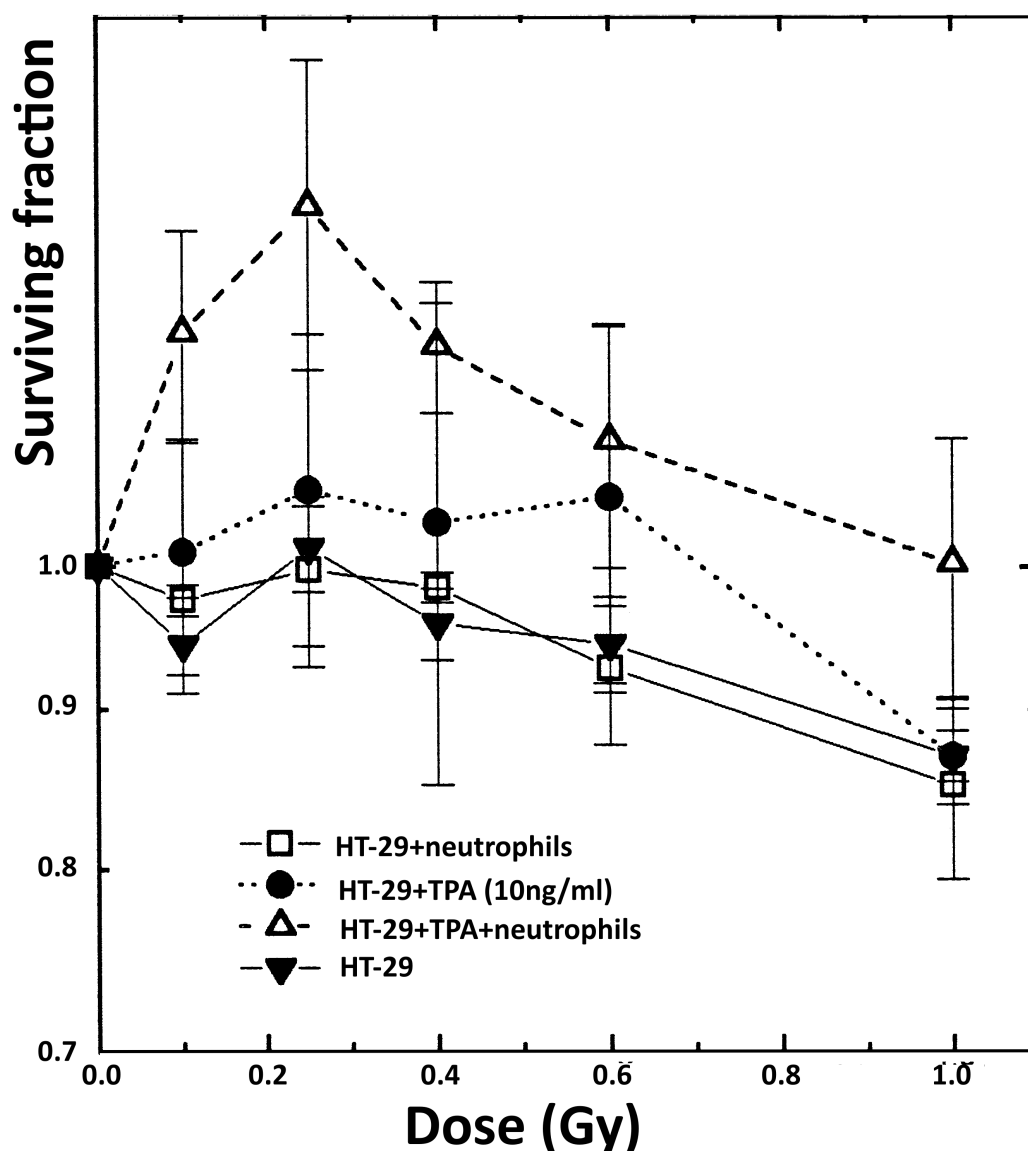
En revanche, les preuves d'une réponse adaptative mutationnelle sont plus convaincantes, puisque les effets du cycle cellulaire et de la progression peuvent être largement exclus lorsque la radiation est donnée comme des expositions aiguës à haut débit de dose. Les protocoles expérimentaux sont similaires à ceux utilisés pour définir la réponse adaptative de la mort cellulaire. Comme avec les études d'effet inverse du débit de dose, les critères *hprt* et *tk* ont dominé les travaux à ce jour. Cependant, bien qu'il y ait des parallèles entre l'HRS/IRR et la réponse adaptative dans la mort cellulaire, il y a aussi des dissimilarités marquées, et il ne serait pas sensé, basé sur l'existence de l'adaptation mutationnelle, de simplement assumer l'existence de l'HRS/IRR mutationnelle dans la réponse aux doses uniques aiguës. À présent, il n'y a pas de preuve directe soutenant l'existence de l'HRS/IRR mutationnelle à dose unique dans les cellules de mammifères, ce qui contraste avec la situation pour les critères de létalité cellulaire où l'existence de l'HRS/IRR est incontestable.

Dans la région de l'HRS, la survie cellulaire chute rapidement avec l'augmentation de la dose (D) sur les premiers ~10 cGy, à un taux correspondant à une valeur de α égale à $>1 \text{ Gy}^{-1}$ (c'est-à-dire α_s) dans la relation Fraction survivante = $e^{-\alpha D}$. En raison de cette sensibilité exquise à la létalité, la mutation (basée sur les estimations actuelles en l'absence d'HRS mutationnelle) serait plus que compensée par la mort cellulaire à des doses inférieures à 10 cGy, ce qui conduirait à ce que le risque transformationnel global pour la population cellulaire soit similaire ou même inférieur à la valeur pour les cellules non irradiées. Par conséquent, sur la base de nos connaissances actuelles de l'HRS, les estimations actuelles du risque d'exposition à de faibles doses aiguës de radiation pourraient représenter la limite supérieure du risque réel de cancer dans certains cas (110, 111).

3.14. Mécanismes possibles

À quoi est dû l'IRR ? Qu'est-ce qui est activé/désactivé ? Quel est le déclencheur ? Plusieurs groupes se sont intéressés à la possibilité d'une réparation induite aux faibles doses de radiation, qui suit l'HRS (typiquement jusqu'à ~0,25 Gy).

Les dommages à l'ADN sont souvent suggérés comme déclencheur de l'IRR, avec une réparation induite (réparation de l'ADN impliquée) suggérée comme cause de l'IRR. L'inhibition du développement de la protection dans l'IRR et les réponses adaptatives par un inhibiteur de la poly(ADP-ribose) polymérase soutient l'implication de la réparation des dommages à l'ADN dans la réponse protectrice.



Radiorésistance intrinsèque (SF2) et étendue de l'hypersensibilité (déficit). Le SF2 est la fraction de survie après une dose de 2 Gy, utilisée pour comparer la sensibilité cellulaire et explorée comme test prédictif. La relation entre la radiorésistance intrinsèque (SF2) et l'étendue de l'hypersensibilité, mesurée comme le « déficit de survie 0-2 Gy » (% du LQ) par rapport à l'ajustement linéaire-quadratique (LQ, Fig. ??), telle que présentée par Lambin et al. Les résultats incluent des lignées de hamster (carrés pleins : V79-379A, AA8, EM-9, UV-20), des cellules HT-29 (carrés vides), ainsi que des données de la littérature utilisant un test de cytométrie en flux (DU145, MCF-7, A549). Les données AT et XR-V15B (lignées déficientes en réparation) ne montrent pas d'IRR. Les symboles (+) représentent des points de contrôle. L'encart montre les résultats dans diverses lignées tumorales humaines (Be11, RT112, HT29, MeWo, HX142, SW48) reproduits de l'étude de Lambin et al., avec les intervalles de confiance (lignes pointillées).

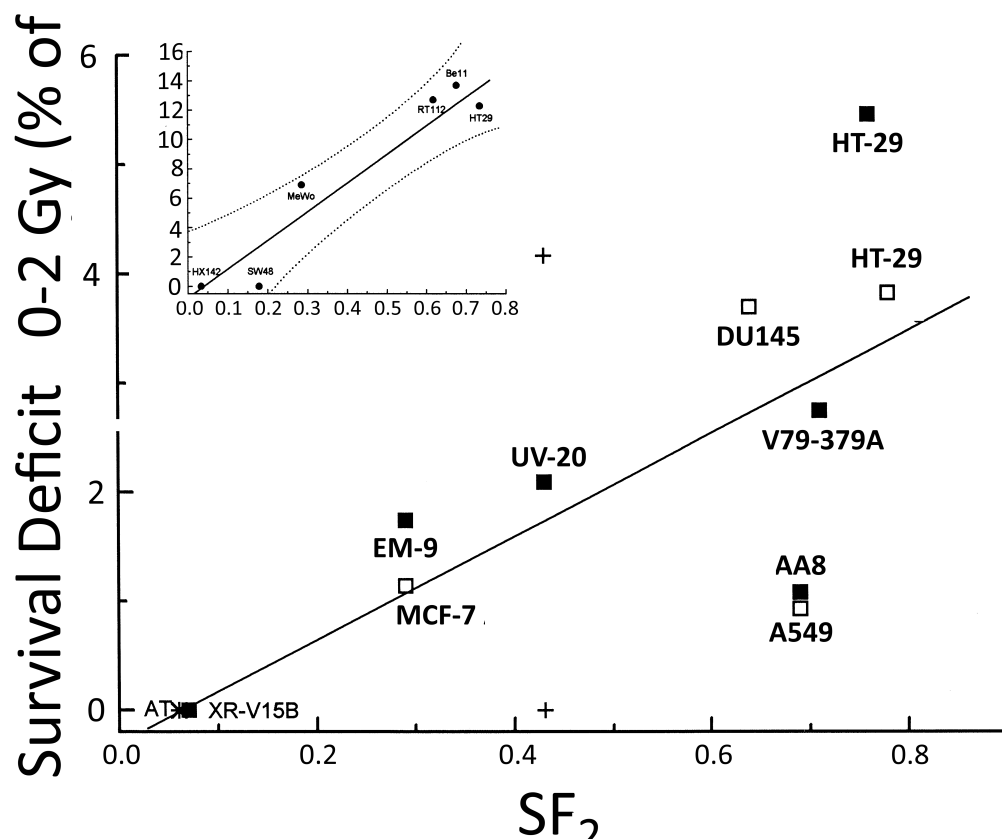
3.14.1. Approches moléculaires

Si un mécanisme moléculaire pour l'IRR était trouvé, il pourrait être possible de trouver une sonde pour la radiosensibilité intrinsèque afin d'aider à la planification du traitement. La connaissance des effets au niveau moléculaire causés par les rayonnements ionisants a exposé :

- Gènes activés et désactivés
- Apoptose
- Transduction du signal
- Cycle cellulaire / points de contrôle / cyclines
- Effets sur les protéines nucléaires

4. Pertinence possible des concepts d'IRR pour l'exposition aux radiations

Les possibilités d'amorçage pour la résistance aux faibles doses sont pertinentes pour les directives concernant ceux qui travaillent dans des conditions dangereuses où le concept d'une dose seuil et la réponse adaptative sont des domaines d'investigation constante.



Cellules HT29 amorcées par des neutrophiles activés. Les cellules HT29 ont été irradiées avec des rayons X avec et sans exposition aux neutrophiles, \pm TPA. (Résultats de trois expériences avec écarts-types.) Quatre conditions sont présentées : HT-29 seul (triangles pleins vers le bas), HT-29 + neutrophiles (carrés vides), HT29 + TPA 10 ng/ml (cercles pleins), et HT-29 + TPA + neutrophiles (triangles vides vers le haut). **Procédure de co-culture :** Les cellules HT29 ont été cultivées en monocouche 2 jours avant l'expérience, puis trypsinisées et remises en suspension à 2×10^6 /ml dans du milieu RPMI (sans sérum). Pour la co-incubation, les neutrophiles (2×10^6) ont été ajoutés à une solution de TPA à une concentration finale de 10 ng/ml dans 15 ml de RPMI pendant 1 h à température ambiante dans l'obscurité. Après centrifugation, le culot (neutrophiles) a été remis en suspension dans 1 ml de RPMI et ajouté à 14 ml de RPMI contenant 2×10^6 cellules HT29. Après incubation pendant 1 h à 37°C, environ 4000 cellules HT29 ont étéensemencées. Les cellules ont été scannées par DMIPS à 37°C et irradiées 4 h après ensemencement. La protection marquée contre les rayons X ($S > 1$) est observée après amorçage par les neutrophiles activés avec TPA, avec un maximum à 0,25 Gy.

4.1. Réponses dans les tissus/cellules normaux

Les lignées cellulaires normales présentent également une hypersensibilité ou une résistance inductible. Des études animales antérieures avaient suggéré l'HRS dans les organes normaux à des doses par fraction allant jusqu'à ~ 1 Gy.

Il y a également des exemples d'amorçage *in vivo*, par exemple l'effet protecteur de l'irradiation à faible débit de dose *in vivo* ou la pré-exposition aux rayons gamma qui protège contre une dose élevée subséquente.

4.2. Sensibilité individuelle

De nombreuses personnes atteintes de maladies génétiques impliquant la réparation de l'ADN souffrent d'une sensibilité accrue aux rayonnements ionisants, comme l'**ataxie télangiectasie** (AT). Une lignée cellulaire AT ne montre pas d'effet de faible débit de dose (alors que les fibroblastes normaux montrent une survie plus élevée après irradiation à faible débit de dose).

Les cellules AT ne semblent pas présenter d'HRS ou d'IRR (voir Figure ??, point AT près de l'origine). Cependant, il est à noter que l'amplitude de la réponse adaptative dans les cellules AT et normales était la même.

4.3. Protecteurs

Avant d'abandonner l'approche des radioprotecteurs, nous devrions considérer :

- La connaissance croissante des nombreuses étapes de la carcinogenèse, pour exploiter pleinement l'intervention à des stades autres que l'initiation.
- Le concept que certains agents chimiques amorcent pour protéger contre les rayonnements ionisants.
- L'amorçage par d'autres stress que les radiations ou les produits chimiques (Figure ??).
- La protection par certains produits naturels vs l'amorçage vs la sensibilisation possible par des facteurs alimentaires (par exemple, la caféine qui empêche certaines réparations).
- Le développement d'agents de type antisens bax (ou antisens bcl2) pour supprimer (ou améliorer) l'apoptose afin de protéger contre (ou sensibiliser à) l'agression.

4.4. Considérations sur le TEL, l'amorçage et le débit de dose

4.4.1. Structures et seuils

La réponse à haut TEL a-t-elle une structure ? Bien que l'étude initiale n'ait indiqué aucune structure en réponse à de faibles doses de neutrons, contrairement à la réponse aux rayons X, il se peut que le test de survie soit limité en sensibilité et que la réponse aux radiations à haut TEL puisse également présenter une structure aux faibles doses.

Y a-t-il des seuils ? L'induction de p53 par les particules alpha n'avait pas de dose seuil, alors qu'il y avait un seuil pour l'induction par les rayons X (10 cGy) et des cinétiques différentes.

Y a-t-il un effet de débit de dose ? Un effet inverse du débit de dose a été noté pour les critères de mutagenèse et également dans une situation clinique.

4.4.2. Amorçage et protéines

De petites doses de divers types de radiation protègent contre les doses de défi de faible TEL (gamma, X). Les particules bêta du thymidine tritiée incorporée dans l'ADN ont amorcé les cellules de hamster pour les protéger contre les rayons X et ont également produit la réponse adaptative.

D'autre part, les neutrons n'amorcent pas pour la réponse adaptative mais éliminent l'HRS dans la réponse aux rayons X ; les pions éliminent également l'HRS ; les protons ne causent pas la réponse adaptative. Il a été noté que les protéines activées par les neutrons diffèrent de celles après irradiation gamma.

Amorçage, temps, défi	Efficacité d'ensem.	Survie	Contrôle
(0 Gy, 4 h) 1 Gy X	0.68 ± 0.06	0.82 ± 0.07	V79
0.2 Gy X, 4 h, 1 Gy X	0.74 ± 0.04	0.94 ± 0.05	PE=0.83
0.2 Gy n, 4 h, 1 Gy X	0.75 ± 0.03	1.08 ± 0.04	
Contrôle HT29, 0.25 Gy X	0.84 ± 0.005	1.02 ± 0.03	HT29 PE=0.85
TPA + neutrophiles, 4 h, 0.25 Gy X	0.49 ± 0.13	1.30 ± 0.16	PE=0.37
Contrôle HT29, 0.1 Gy X	0.78 ± 0.04	0.94 ± 0.02	
TPA + neutrophiles, 4 h, 0.1 Gy X	0.44 ± 0.05	1.19 ± 0.08	

Table 2: Résumé des données d'amorçage par neutrons (n) et rayons X (X) (cellules V79) et comparaison avec l'amorçage par neutrophiles activés (cellules HT29, données supplémentaires en Figure ??). La protection marquée contre les rayons X avec « survie supérieure à 1 » obtenue par amorçage aux neutrons n'a été dépassée que par l'amorçage avec des neutrophiles activés. PE = efficacité d'ensemencement (plating efficiency).

5. Tableau récapitulatif : Domaines de chevauchement

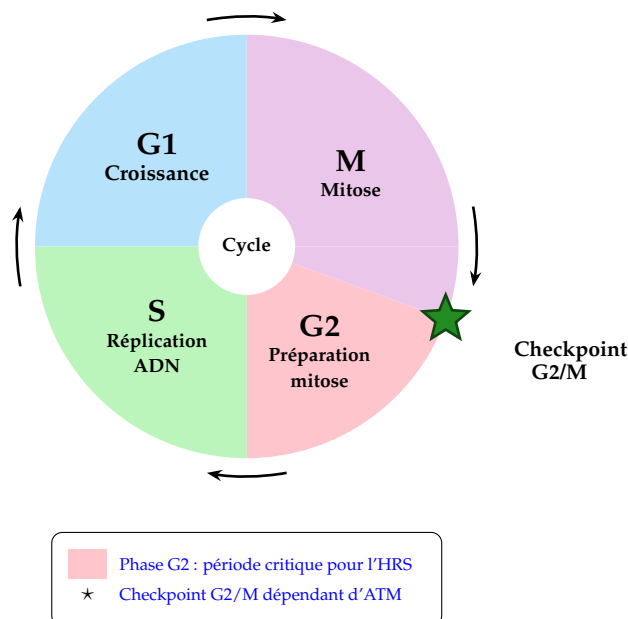
Domaine	Traitement (Section 1)	Exposition aux radiations (Section 2)
Sensibilité	IRR/HRS (Fig. ??), déficit par rapport au modèle LQ (Fig. ??)	Cellules normales ont IRR, sensibilité intrinsèque et génétique
Amorçage / Protection	Amorçage et mécanismes (Tab. 2)	Considérations TEL et seuil
Implications	Fractionnement, tissus normaux	Hormèse vs hypersensibilité
Gènes	Nouveaux tests prédictifs pour réponse tumorale	Prédisposition génétique et sensibilité individuelle
Apoptose	« Anti-sens bcl2 »	« Anti-sens bax »
Agents chimiques	Nouveaux sensibilisateurs (prévenir IRR) ou protecteurs (amorcer normal)	Chimioprévention, facteurs nutritionnels
Débit de dose	Curiethérapie	Inverse ? TEL ?
Informations requises : Mutations vs survie, effets du débit de dose, TEL, chronique vs aigu, y a-t-il un seuil, quel est le déclencheur, le dommage à l'ADN est-il essentiel, qu'est-ce qui est déclenché.		

Comparaison des implications de l'HRS/IRR pour le traitement du cancer et l'exposition aux radiations.

6. Role du Checkpoint G2/M

6.1. Le cycle cellulaire et la phase G2

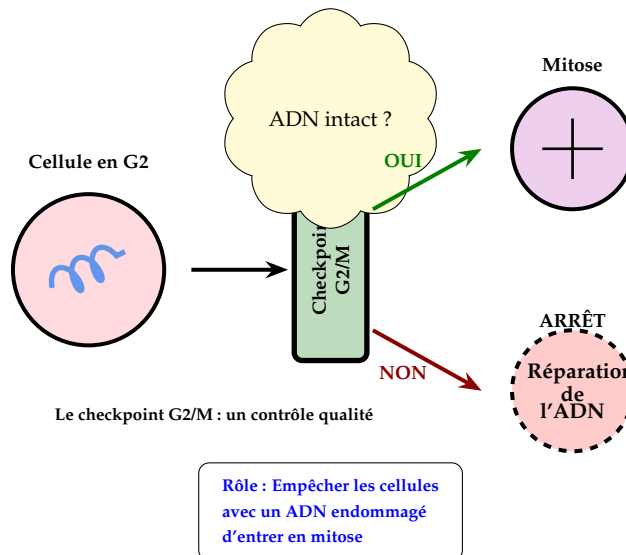
Le cycle cellulaire comprend quatre phases principales. La phase **G2** est la période de préparation finale avant la mitose, où la cellule vérifie que son ADN est correctement répliqué et intact.



Le cycle cellulaire avec ses quatre phases.

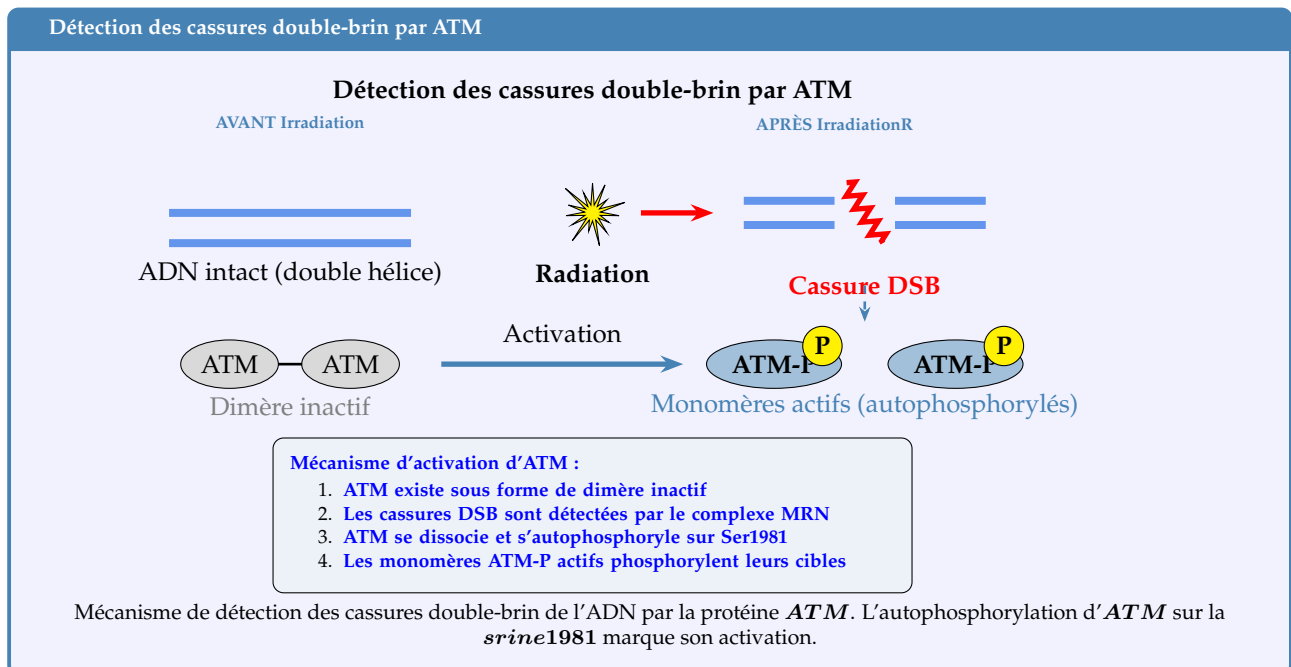
6.2. Détection des dommages par ATM

Le checkpoint **G2/M** peut être comparé à un **contrôle qualité** avant la division cellulaire. Son rôle est de vérifier que l'ADN est intact avant d'autoriser la cellule à entrer en mitose.



Le checkpoint **G2/M** agit comme un contrôle qualité vérifiant l'intégrité de l'ADN avant la division cellulaire.

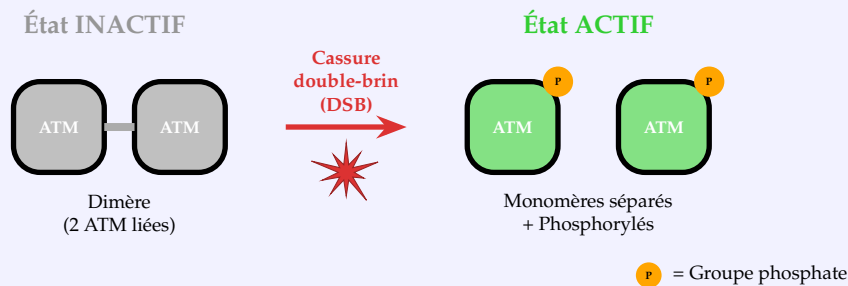
Lorsqu'une cellule en phase **G2** reçoit des radiations ionisantes, des cassures double-brin (DSB) apparaissent dans l'ADN. La protéine **ATM** agit comme un **détecteur** : elle reconnaît ces cassures et s'active par autophosphorylation.



ATM (*Ataxia Telangiectasia Mutated*) est une protéine kinase clé dans la réponse aux dommages de l'ADN. Elle agit comme un **détecteur** des cassures double-brin (DSB), les dommages les plus dangereux pour la cellule.

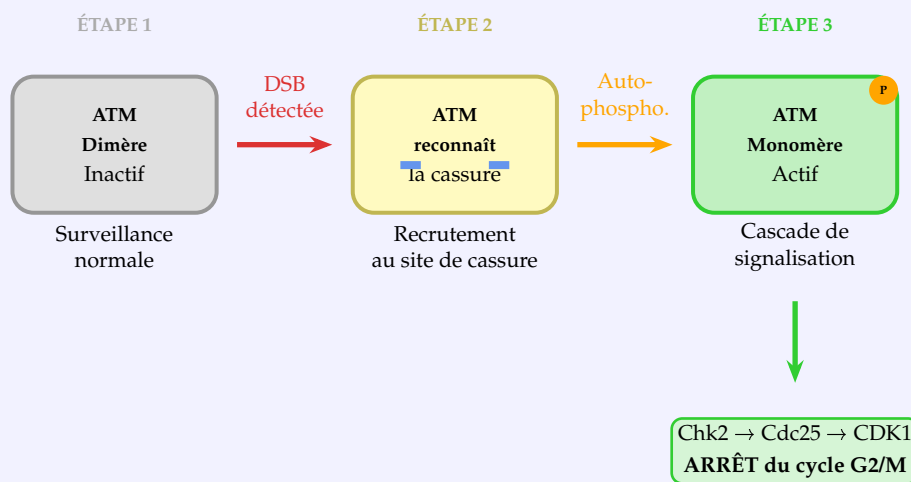
Autophosphorylation

Processus par lequel une protéine ajoute un groupe phosphate (PO_4^{3-}) sur **elle-même**, modifiant ainsi son activité. **Structure d'ATM : Forme inactive vs active**



Activation d'ATM par autophosphorylation. À l'état normal, ATM existe sous forme de dimère inactif. La détection d'une cassure double-brin (DSB) provoque la séparation du dimère et l'autophosphorylation des monomères, les rendant actifs.

Mécanisme d'activation en 3 étapes

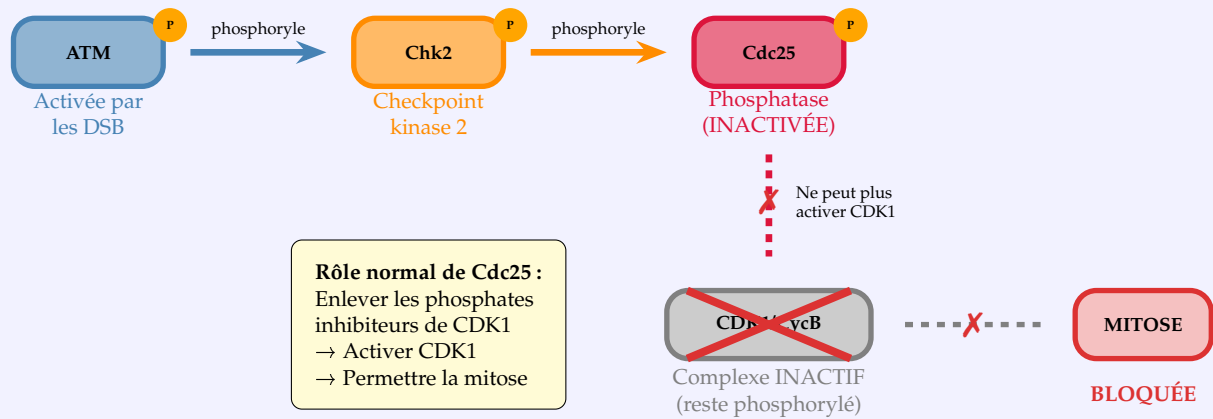


Les 3 étapes de l'activation d'ATM. (1) ATM surveille l'ADN sous forme inactive. (2) Détection et recrutement au site de cassure. (3) Autophosphorylation et activation de la cascade de signalisation menant à l'arrêt du cycle cellulaire.

6.3. La cascade de signalisation

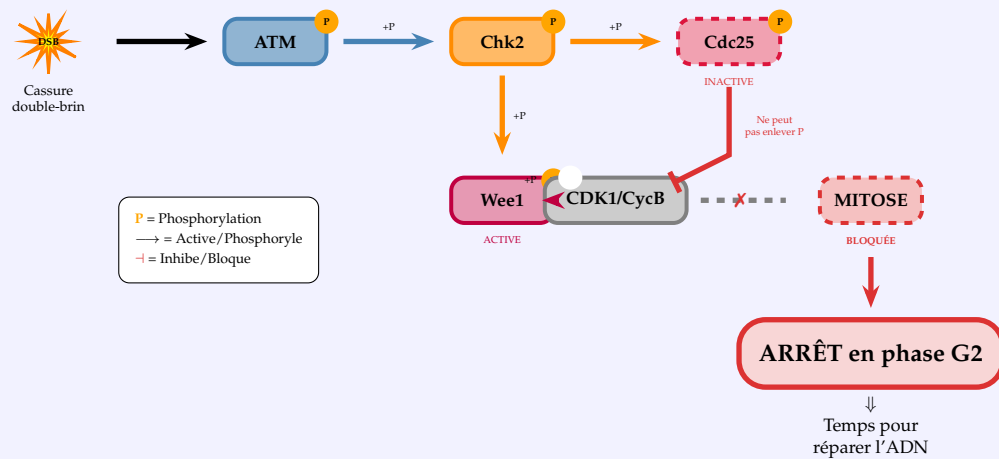
Une fois activée, **ATM** déclenche une cascade de phosphorylations qui aboutit au blocage du complexe **CDK1/CyclineB**, le "moteur" de l'entrée en mitose.

La cascade de signalisation



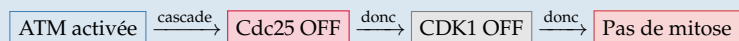
La cascade $ATM \rightarrow Chk2 \rightarrow Cdc25 \dashv CDK1$. ATM activée phosphoryle Chk2, qui phosphoryle Cdc25. Cdc25 phosphorylée est inactive et ne peut plus activer CDK1/Cycline B. Sans CDK1 actif, la cellule ne peut pas entrer en mitose.

CDK1/Cycline B : Le moteur de la mitose

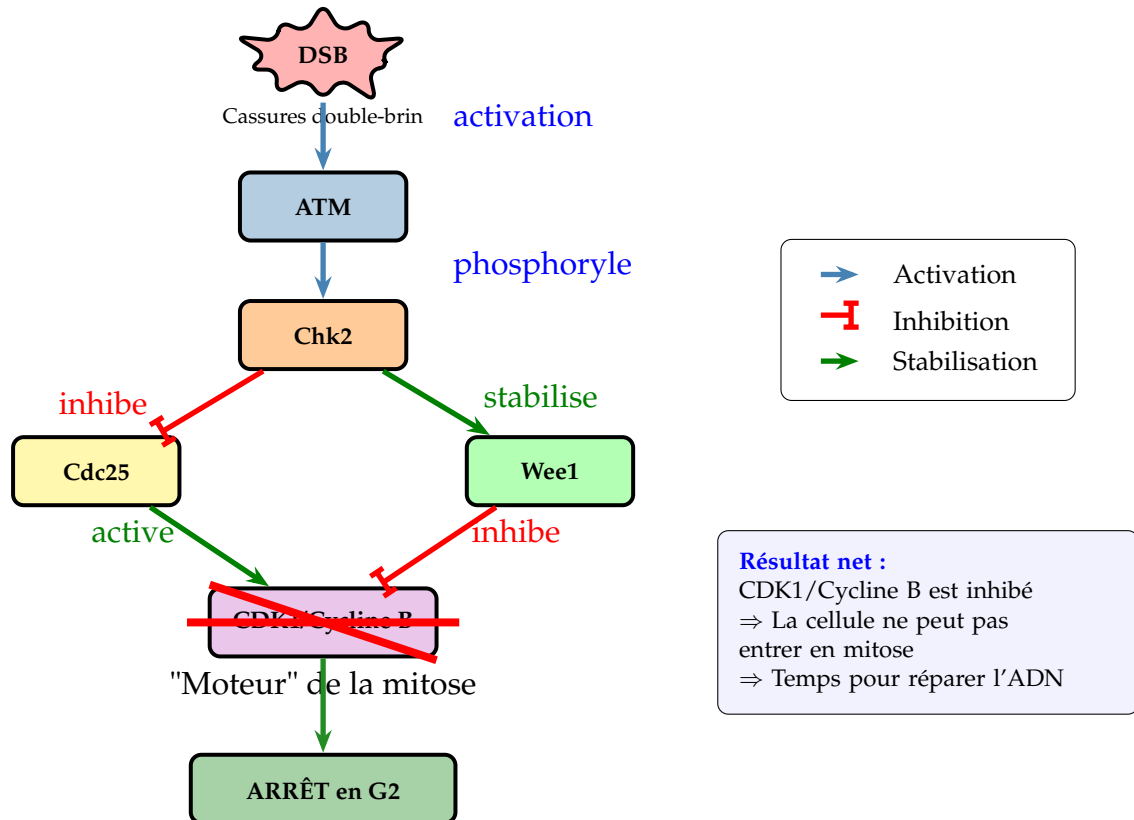


Cascade complète de signalisation ATM. Les DSB activent ATM, qui phosphoryle Chk2. Chk2 a deux effets : (1) il inactive Cdc25 (qui ne peut plus activer CDK1), et (2) il active Wee1 (qui maintient CDK1 inactif en le phosphorylant). Résultat : CDK1/Cycline B reste inactif et la mitose est bloquée.

La phrase résumée :



Cascade de signalisation du checkpoint G2/M

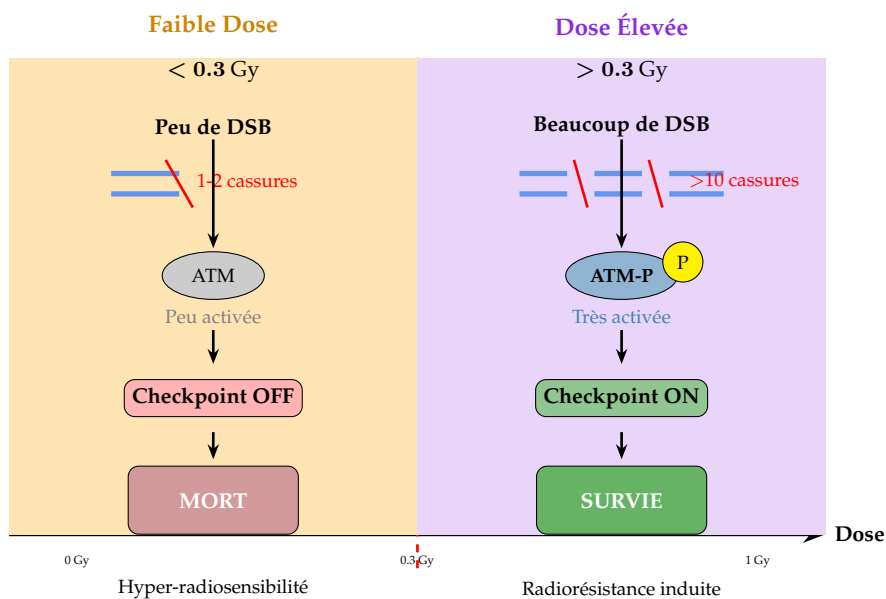


Cascade de signalisation déclenchée par *ATM*. La double action sur *Cdc25* (inhibition) et *Wee1* (stabilisation) assure un blocage efficace de *CDK1/Cycline B*.

6.4. Le problème aux faibles doses : le seuil d'activation d'ATM

Voici le point critique : *ATM* a besoin d'un seuil minimum de dommages pour s'activer efficacement. C'est ce seuil qui explique l'hyper-radiosensibilité aux faibles doses.

Le seuil d'activation d'ATM



Comparaison de la réponse cellulaire aux faibles et fortes doses. Le seuil d'activation d'*ATM* ($D_c \approx 0.2 - 0.5 \text{ Gy}$) détermine si le checkpoint sera activé ou non.

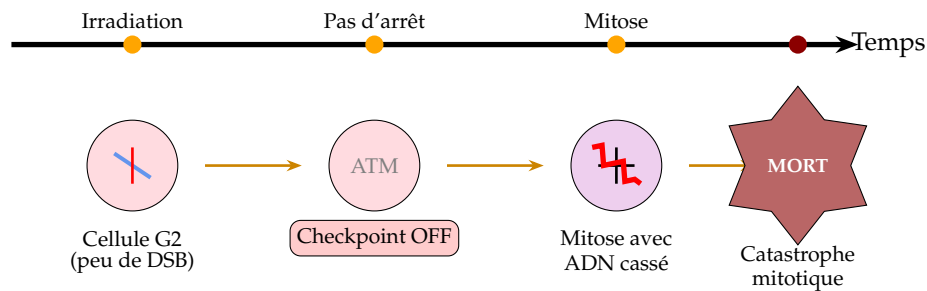
Comparaison des réponses cellulaires selon la dose

Paramètre	Faible dose ($< D_c$)	Dose élevée ($> D_c$)
Nombre de DSB	Faible (1-5)	Élevé (>10)
Activation ATM	Faible/Absente	Forte
Checkpoint G2/M	Non activé	Activé
Devenir cellulaire	Mitose avec ADN cassé	Arrêt et réparation
Résultat	MORT (HRS)	SURVIE (IRR)

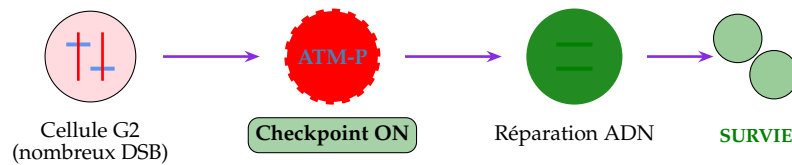
6.5. Mécanisme détaillé de l'hyper-radiosensibilité

Pourquoi les cellules meurent aux faibles doses ?

FAIBLE DOSE



DOSE ÉLEVÉE

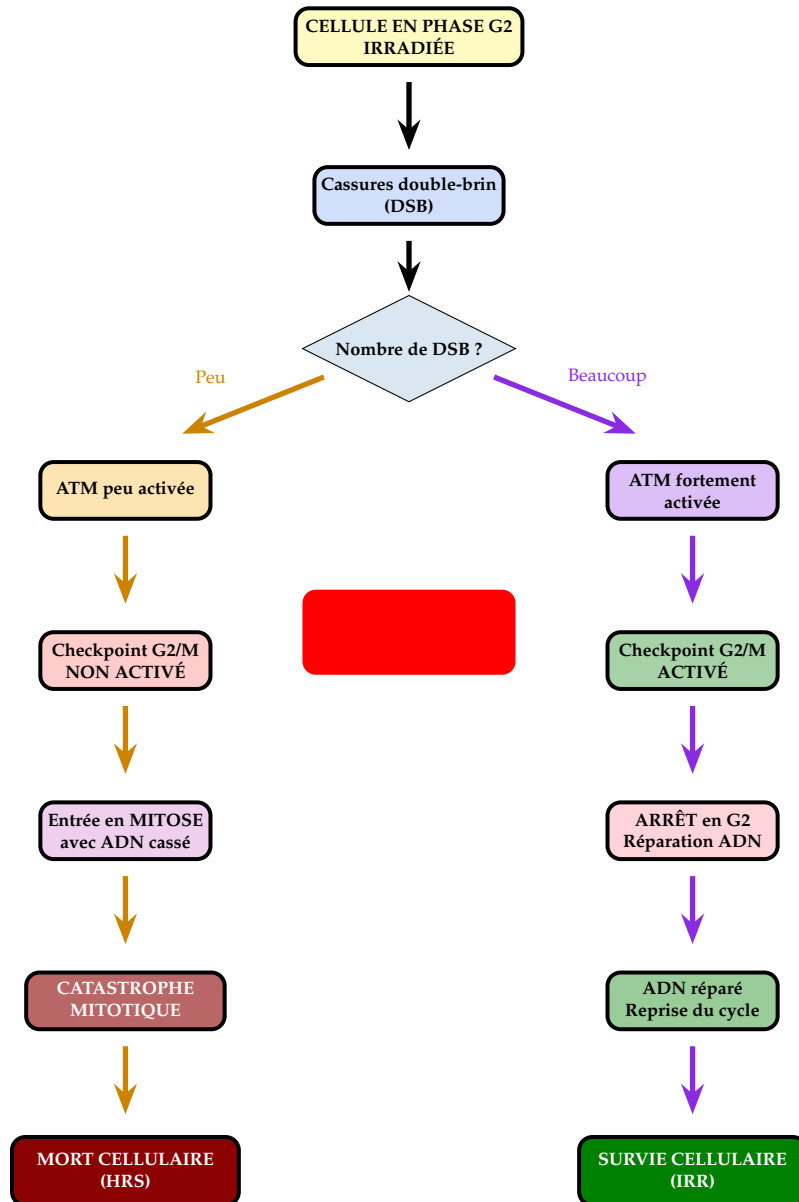


Point clé : Le seuil d'activation d'ATM détermine le destin cellulaire

Comparaison des destins cellulaires aux faibles doses (haut, HRS) et aux doses plus élevées (bas, IRR). Le checkpoint G2/M non activé aux faibles doses conduit à la catastrophe mitotique.

7. Schéma récapitulatif

SCHÉMA RÉCAPITULATIF : HRS et checkpoint G2/M



■ Faible dose ($< D_c$) : Hyper-radiosensibilité (HRS) ■ Dose élevée ($> D_c$) : Radiorésistance induite (IRR)

Schéma récapitulatif du rôle du checkpoint G2/M dépendant d'ATM dans le phénomène d'hyper-radiosensibilité. La dose critique D_c détermine si le checkpoint est activé ou non.

8. Conclusion

Le checkpoint G2/M dépendant d'ATM joue un rôle central dans le phénomène d'hyper-radiosensibilité aux faibles doses :

1. **ATM agit comme un senseur** des dommages à l'ADN, mais nécessite un seuil minimum de cassures pour s'activer efficacement.
2. **Aux faibles doses** ($< D_c \approx 0.2 - 0.5$ Gy), le nombre de cassures est insuffisant pour activer pleinement ATM et le checkpoint G2/M.
3. **Sans arrêt du cycle**, les cellules endommagées entrent en mitose avec des cassures non réparées, conduisant à la catastrophe mitotique et à la mort cellulaire.
4. **Aux doses plus élevées**, ATM est activée, le checkpoint bloque les cellules en G2, permettant la réparation de l'ADN avant la mitose.
5. Ce mécanisme explique le **paradoxe apparent** où les cellules survivent mieux à des doses modérées qu'à de très faibles doses.

8.1. Plages de doses caractéristiques

À mesure que la dose augmente au-delà d'environ 20–40 cGy, on observe une augmentation de la radiorésistance (**IRR**) jusqu'à ce que, au-delà d'environ 1 Gy, la radiorésistance soit maximale et que la survie cellulaire suive la courbe descendante habituelle décrite par le modèle LQ.

Phase	Plage de dose	Caractéristique
HRS maximale	5–20 cGy	Hypersensibilité marquée
Transition (D_c)	20–40 cGy	Point d'inflexion
IRR	40–100 cGy	Radiorésistance induite
Comportement LQ	> 100 cGy	Modèle classique

Table 5: Plages de doses caractéristiques du phénomène HRS/IRR

9. Modèles mathématiques

9.1. Modèle Linéaire-Quadratique (LQ)

Le modèle LQ classique décrit la survie cellulaire par :

$$S = \exp(-\alpha D - \beta D^2) \quad (1)$$

où D est la dose, α représente les lésions létales directes et β les lésions sub-létales accumulées.

Limitation : Ce modèle sous-estime la mort cellulaire aux faibles doses (< 0.5 Gy).

9.2. Modèle de Réparation Induite (IR)

Le modèle IR, proposé par Joiner et al. [24], intègre le phénomène HRS/IRR :

$$S = \exp \left\{ -\alpha_r \left[1 + \left(\frac{\alpha_s}{\alpha_r} - 1 \right) \exp \left(-\frac{D}{D_c} \right) \right] D - \beta D^2 \right\} \quad (2)$$

Paramètre	Description	Valeurs typiques
α_s	Pente initiale (hypersensibilité)	5–15 Gy ⁻¹
α_r	Pente à l'épaule (résistance)	0.1–0.5 Gy ⁻¹
D_c	Dose critique de transition	0.2–0.5 Gy
β	Composante quadratique	Variable

Table 6: Paramètres du modèle de Réparation Induite

Critères de confirmation de l'HRS :

- Rapport $\alpha_s/\alpha_r > 3$
- Intervalles de confiance de α_s et α_r non chevauchants
- $D_c \neq 0$

10. Mécanismes moléculaires

10.1. Rôle du checkpoint G2/M

Le mécanisme principal de l'HRS implique une **défaillance du checkpoint G2/M** aux faibles doses [39] :

1. **Faibles doses** ($< D_c$) : Le nombre de cassures double-brin (DSB) est insuffisant pour activer pleinement ATM
2. **Checkpoint non activé** : Les cellules endommagées entrent en mitose avec de l'ADN non réparé
3. **Catastrophe mitotique** : Mort cellulaire par apoptose ou nécrose

10.2. Cascade de signalisation ATM

Cascade de signalisation

DSB → ATM (activation) → Chk2 (phosphorylation) → Cdc25 (inhibition) → CDK1/CycB (blocage) → **ARRÊT G2**

Aux faibles doses : ATM n'est pas suffisamment activée ⇒ pas d'arrêt du cycle ⇒ mort cellulaire accrue (HRS).

Aux doses plus élevées : ATM activée ⇒ arrêt du cycle ⇒ réparation de l'ADN ⇒ survie améliorée (IRR).

11. Implications cliniques

- **Fractionnement ultra-hypofractionné** : Exploiter l'HRS pour améliorer l'efficacité thérapeutique
- **Combinaison avec inhibiteurs de checkpoint** : Abolir l'IRR pour maintenir l'hypersensibilité
- **Protection des tissus sains** : Les tissus quiescents présentent moins d'HRS que les tumeurs proliférantes

A Joiner MC, Johns H (1988)

Radiat Res., Vol.114(2), pp.385-98, 1988

Renal damage in the mouse: the response to very small doses per fraction

M C Joiner, H Johns

Experiments were undertaken to study the effect on the mouse kidney of repeated X-ray doses in the range 0.2 to 1.6 Gy per fraction and neutron doses in the range 0.05 to 0.25 Gy per fraction. A top-up design of experiment was used, so that additional graded doses of d(4)-Be neutrons ($EN = 2.3$ MeV) were given to bring the subthreshold damage produced by these treatments into the measurable range. This approach avoided the necessity to use a large number of fractions to study low doses per fraction. Renal damage was assessed using three methods: ^{51}Cr -EDTA clearance, urine output, and hematocrit at 16-50 weeks postirradiation. The dose-response curves obtained were resolved best at 29 weeks. However, the results were also examined by fitting second-order polynomials to the data for response versus time postirradiation and using interpolated values from these functions at 29 weeks to construct dose-response curves. This method reduced slightly the variation in the dose-response data, but the interrelationship between the dose-response curves remained the same. The data were used to test the linear-quadratic (LQ) description of the underlying X-ray dose-fractionation relationship. The model fits well down to X-ray doses per fraction of approximately 1 Gy, but lower X-ray doses were more effective per gray than predicted by LQ, as seen previously in skin [M. C. Joiner et al., *Int. J. Radiat. Biol.* 49, 565-580 (1986)]. This increased X-ray effectiveness and deviation from LQ are reflected directly in a decrease in the RBE of d(4)-Be neutrons relative to X-rays at low doses, since the underlying response to these neutrons is linear in this low-dose region. The RBE decreases from 9.9 to 4.7 as the X-ray dose per fraction is reduced below 0.8 Gy to 0.2 Gy, reflecting an increase in X-ray effectiveness by a factor of 2.1. A model is discussed which attempts to explain this behavior at low doses per fraction.

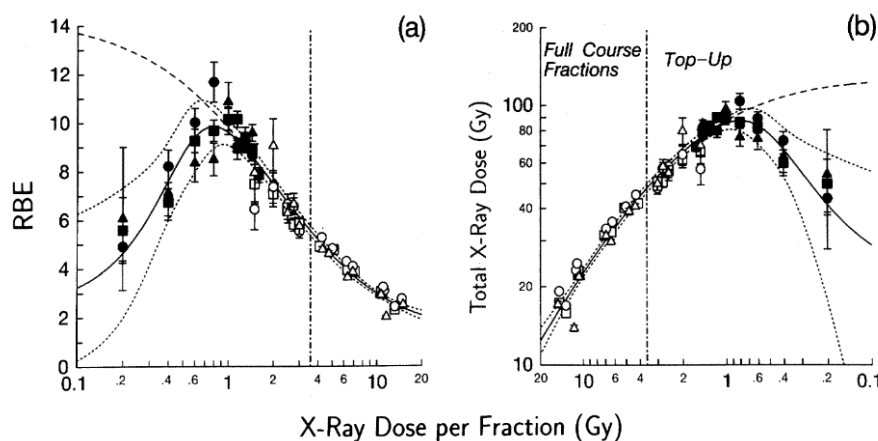


FIG. 7. All available data from comparisons between 240 kVp X rays and d(4)-Be neutrons in the mouse kidney, plotted as (a) RBE between X rays and neutrons or (b) isoeffective X-ray doses to give 3% residual activity, 40% hematocrit, or 15 urination events per day, at 29 weeks postirradiation. Closed symbols, present data. Open symbols, previous data summarized by Joiner and Johns (21). Squares, EDTA clearance. Circles, hematocrit. Triangles, urination frequency. The solid lines are the fit to all the data using a model incorporating increasing X-ray sensitivity at very low X-ray doses per fraction, with the dotted lines showing the 95% confidence limits on the mean (expected) values from this fit. Above 1 Gy per fraction, the model rapidly approaches a simple LQ fit, as shown by the dashed line.

B Marples B, Joiner MC (1993)

Radiation Research, Vol.133(1), pp.41-51, 1993

The response of Chinese hamster V79 cells to low radiation doses: evidence of enhanced sensitivity of the whole cell population

B Marples, M C Joiner

High-resolution measurements of the survival of asynchronous Chinese hamster V79-379A cells in vitro after single doses of X rays (0.01-10.0 Gy) and neutrons (0.02-3.0 Gy) were made using a computerized microscope for locating and identifying cells (Palcic and Jaggi, Int. J. Radiat. Biol. 50, 345-352, 1986). The X-ray response from 1 to 10 Gy showed a good fit to a linear-quadratic (LQ) dose-survival model, but with X-ray doses below 0.6 Gy, an increased X-ray effectiveness was observed, with cell survival below the prediction made from the data above 1 Gy using the LQ model. The effect per unit dose ($-\log(e)SF/\text{dose}$) increased by a factor of approximately 2, from 0.19 Gy⁻¹ at a dose of 1 Gy to 0.37 Gy⁻¹ at a dose of 0.1 Gy. This phenomenon was not seen with neutrons, and cell survival decreased exponentially over the whole neutron dose range studied. Further data suggest that this phenomenon is unlikely to be due to a subpopulation of X-ray-sensitive cells determined either genetically or phenotypically by distribution of the population within the cell cycle. The existence of low-dose sensitivity also appeared to be independent of dose rate in the range 0.016-1.7 Gy min⁻¹. A possible explanation of these results is that the phenomenon reflects "induced repair" or a stress response: low doses in vitro (or low doses per fraction in vivo) are more effective per gray than higher doses because only at the higher doses is there sufficient damage to trigger repair systems or other radioprotective mechanisms.

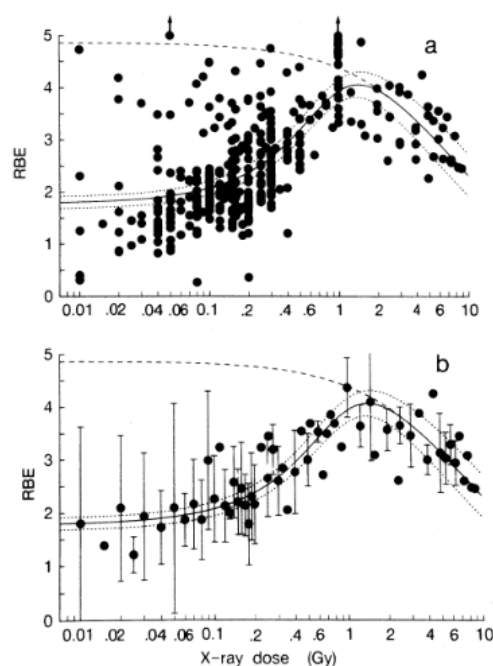


FIG. 4. Relative biological effectiveness (RBE) between 250-kVp X rays and d(4)-Be neutrons plotted against X-ray dose. Smaller RBE means greater X-ray effect per unit dose. The RBE value was calculated for each individual measurement of X-ray survival, relative to the fit to the neutron data obtained within the same experiment (see text). Panel (a) shows all the individual measurements and panel (b) shows the data as mean values \pm SD. Solid lines show the fit of an "induced repair" model to the data (see text) with 95% confidence limits on the mean (expected) prediction shown as dotted lines. The dashed lines show how a linear-quadratic model of X-ray response fits the data at doses ≥ 1 Gy, but significantly underestimates the effect of X rays at lower doses.

C P Lambin, B Marples, B Fertil, E P Malaise, M C Joiner (1993)

Int J Radiat Biol., Vol.63(5), pp.639-50, 1993

Hypersensitivity of a human tumour cell line to very low radiation doses

P Lambin, B Marples, B Fertil, E P Malaise, M C Joiner

Survival of HT29 cells was measured after irradiation with single doses of X-rays (0.05-5 Gy) and neutrons (0.025-1.5 Gy), using a Dynamic Microscopic Imaging Processing Scanner (DMIPS) with which individual cells can be accurately located in tissue culture flasks, their positions recorded, and after an appropriate incubation time the recorded positions revisited to allow the scoring of survivors. The response over the X-ray dose range 2-5 Gy showed a good fit to a Linear-Quadratic (LQ) model. For X-ray doses below 1 Gy, an increased X-ray effectiveness was observed with cell survival below the high-dose LQ prediction. The value of $-\text{dose}/\log_e(\text{SF})$ for each experimental data point, plotted against dose, demonstrated clearly how X-rays are maximally effective at doses approaching zero, becoming less effective as the dose increases and with minimal effectiveness at about 0.6 Gy then becoming more effective again as the dose increases above 1.5 Gy. This phenomenon was not seen with neutrons. Neutron RBE was calculated for each X-ray data point by taking each X-ray survival value and comparing it with the common LQ fit to all the neutron data. Over the X-ray dose range 0.05-0.2 Gy, the RBE is close to 1 indicating that these very low doses of X-rays are of similar effectiveness to neutrons in killing cells. The increase in RBE with increasing dose over the range 0.05-1 Gy, and the slight decrease in RBE above 1 Gy, reflect primarily the changes in X-ray sensitivity over the whole dose range of 0.05-5 Gy. Several arguments suggest that this phenomenon could reflect an induced radioresistance so that in this system low single doses of X-rays are more effective per Gy than higher doses in reducing cell survival because only at higher doses, above a threshold, is there sufficient damage to trigger radioprotective mechanisms.

D E P Malaise, P Lambin, M C Joiner (1994)

Radiat Res., Vol.138(1 Suppl), pp.S25-7, 1994

Radiosensitivity of human cell lines to small doses. Are there some clinical implications?

E P Malaise, P Lambin, M C Joiner

The concept of intrinsic radiosensitivity is now strongly associated with the linear-quadratic (LQ) model which is currently the best and the most reliable method to fit the first three decades of a survival curve for both human fibroblast and human tumor cell lines. This approach has led to the major conclusions that it is the initial part, and not the distal part, of the survival curve which truly characterizes intrinsic cellular radiosensitivity and there is a correlation between the parameters describing mainly the initial part of the survival curve (α , SF_2 , D) and the clinical radioresponsiveness. More accurate analysis with flow cytometry or a dynamic microscopic image processing scanner (*DMIPS*) has allowed further study of the survival curve which has shown two sorts of substructure. On one hand, the overall survival curve of exponentially growing cells is described by two or more sets of alpha, beta parameters (heterogeneity in radiosensitivity due to the cell cycle). On the other hand, hypersensitivity at very low doses (< 0.5 Gy) followed by an increase of the radioresistance of the whole population at higher doses has also been observed. This phenomenon is not described by the conventional LQ model and has been interpreted as an induced radioresistance which seems to be negatively correlated with intrinsic radiosensitivity. In clinical radiotherapy, there are two sorts of response of normal tissues: (1) the early and late damage and (2) the carcinogenesis. Concerning the first point, the clinically detectable radiation damage appears at doses usually around 20 Gy (in 2-Gy fractions) with the exception of the hemopoietic and the lymphatic tissues. Therefore, the small doses delivered at the edges or in the penumbrae of treatment fields in routine radiotherapy cannot create detectable damage, despite a potentially much higher effect per unit dose, because the total doses are still very small. However, it may be important to bear in mind the possible extra effect of low doses outside the target volume if regions in the vicinity are subsequently retreated. Concerning clinical radiation-induced carcinogenesis, three studies described a higher relative risk associated with small doses per fraction or very low dose rate. The results and the interpretation of these studies are discussed.

E P. Lambin, B. Fertil, E. P. Malaise, M. C. Joiner (1994)

Radiation Research, Vol.138(1), 1994

Multiphasic Survival Curves for Cells of Human Tumor Cell Lines: Induced Repair or Hypersensitive Subpopulation?

P. Lambin, B. Fertil, E. P. Malaise, M. C. Joiner

Survival of the cells of three human tumor cell lines of differing radiosensitivity was measured after irradiation with single doses of X rays (0.05-5 Gy). At doses below 1 Gy, cells were more radiosensitive than predicted by back-extrapolating the high-dose response. This difference was more marked for cells of the radioresistant cell lines than the radiosensitive cell line so that the "true" initial slopes of the survival curves, at very low doses, were similar for the cells of the three cell lines. This phenomenon could reflect an induced radioresistance so that low doses of X rays are more effective per gray than higher doses, because only at higher doses is there sufficient damage to trigger repair systems or other radioprotective mechanisms which can then act during the time course for repair of DNA injury

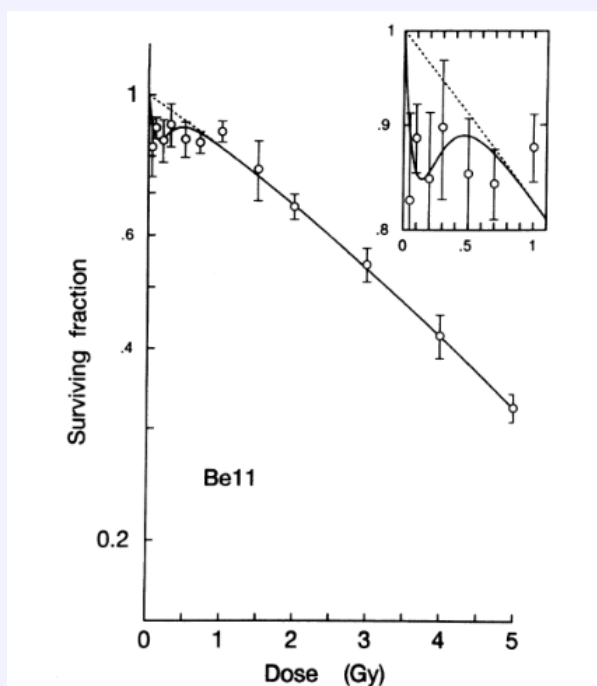


FIG. 1. Survival of radioresistant Be11 cells irradiated with 240 kVp X rays. Data points show the mean \pm SEM of four experiments with multiple repeats at some doses (generally between five and seven determinations of survival per dose). The dotted line shows the fit of the linear-quadratic model to the X-ray data at ≥ 2 Gy. The solid line shows the fit of the induced repair model to all the X-ray data. At X-ray doses < 1 Gy, the LQ model substantially underpredicts the effect of X rays, which is better fitted by the induced repair model. The inset shows the region of the survival curve between 0 and 1 Gy magnified.

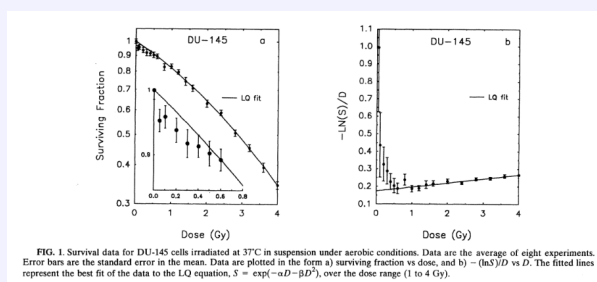
F B G Wouters , L D Skarsgard (1994)

Radiat Res., Vol.138(1 Suppl), pp.S76-80, 1994

The response of a human tumor cell line to low radiation doses: evidence of enhanced sensitivity

B G Wouters , L D Skarsgard

The survival of asynchronous, exponentially growing DU-145 human tumor cells was measured after single doses of X rays in the dose range of 0.05-4 Gy using the cell sorting assay. When the response was modeled with the linear-quadratic (LQ) equation, a good fit to the data was observed for dose levels above 1 Gy; however, a region of enhanced sensitivity was observed at doses less than this. One possible explanation of this low-dose substructure is that a small, sensitive subpopulation of cells is selectively killed at low doses. Modeling of the radiation response with a two-population LQ model suggests that for these data this explanation is unlikely. Another possibility is that the whole cell population is initially hypersensitive, becoming radioresistant as damage is sustained by the cell. Conceivably this radioprotective mechanism could act in one of two ways. The cell could move from a radiation-sensitive to a radiation-resistant state by a continuous function of dose, or alternatively, only after a sufficient accumulation of damage, i.e. a "triggering dose." Both of these possibilities have been explored in the results of fitting two "induced resistance" models.



G Marples B, Adomat H, Koch CJ, Skov KA (1996)

Int J Radiat Biol., Vol.70(4), pp. 429-36, 1996

Response of V79 cells to low doses of X-rays and negative pi-mesons: clonogenic survival and DNA strand breaks

B Marples, H Adomat, C J Koch, K A Skov

Mammalian cells are hypersensitive to very low doses of X-rays (< 0.2 Gy), a response which is followed by increased radioresistance up to 1 Gy. Increased radioresistance is postulated to be a response to DNA damage, possibly single-strand breaks, and it appears to be a characteristic of low linear energy transfer (LET) radiation. Here we demonstrate a correspondence between the extent of the increased radioresistance and linear energy transfer of 250 kVp X-rays and plateau and Bragg peak negative pi-mesons. The results support our hypothesis since the size of the increased radioresistant response appears to correspond to the number of radiation induced single-strand breaks. Furthermore, since survival prior to the increased radioresistant response (< 0.2 Gy) was LET-independent, these data support the notion that the increased radioresistant response may dictate the overall survival response to higher doses. However, while these data provide further circumstantial evidence for the involvement of DNA strand breaks in the triggering of increased radioresistance, more direct conclusions cannot be made. The data are not accurate enough to detect structure in the single-strand break profiles, the production of single-strand breaks being apparently linear with dose

H B G Wouters, A M Sy, L D Skarsgard (1996)

Radiat Res., Vol.146(4), pp.399-413, 1996

Low-dose hypersensitivity and increased radioresistance in a panel of human tumor cell lines with different radiosensitivity

B G Wouters, A M Sy, L D Skarsgard

It is well known that cells of human tumor cell lines display a wide range of sensitivity to radiation, at least a part of which can be attributed to different capacities to process and repair radiation damage correctly. We have examined the response to very low-dose radiation of cells of five human tumor cell lines that display varying sensitivity to radiation, using an improved assay for measurement of radiation survival. This assay improves on the precision of conventional techniques by accurately determining the numbers of cells at risk, and has allowed us to measure radiation survival to doses as low as 0.05 Gy. Because of the statistical limitations in measuring radiation survival at very low doses, extensive averaging of data was used to determine the survival response accurately. Our results show that the four most resistant cell lines exhibit a region of initial low-dose hypersensitivity. This hypersensitivity is followed by an increase in radioresistance over the dose range 0.3 to 0.7 Gy, beyond which the response is typical of that seen in most survival curves. Mathematical modeling of the responses suggests that this phenomenon is not due to a small subpopulation of sensitive cells (e.g. mitotic), but rather is a reflection of the induction of resistance in the whole cell population, or at least a significant proportion of the whole cell population. These results suggest that a dose-dependent alteration in the processing of DNA damage over the initial low-dose region of cell survival may contribute to radioresistance in some cell lines.

I L D Skarsgard, M W Skwarchuk, B G Wouters, R E Durand (1996)

Radiat Res., Vol.146(4), pp.388-98, 1996 1996

Substructure in the radiation survival response at low dose in cells of human tumor cell lines

L D Skarsgard, M W Skwarchuk, B G Wouters, R E Durand

In earlier studies using asynchronously growing Chinese hamster cells, we observed substructure in the survival response at low doses. The substructure appeared to result from subpopulations of cells having different, cell cycle phase-dependent radiosensitivity. We have now applied the same flow cytometry and cell sorting technique to accurately measure the responses of cells of eight different asynchronously growing human tumor cell lines, representing a wide range in radiosensitivity. When the data were fitted with a linear-quadratic (LQ) function, most of these lines showed substructure similar to that observed in Chinese hamster cells, with the result that values of alpha and beta were dependent on the dose range used for fitting. Values of alpha describing the low-dose response were typically smaller (by as much as 2.2 times) than the alpha describing the high-dose response, while values of beta were larger at low doses. Values of alpha/beta from our measurements are in reasonable agreement with other values published recently if we fit the data for the high-dose range (excluding, for example, 0-4 Gy), which corresponds to a conventional survival response measurement. However, the values of alpha/beta describing the low-dose range were, on average, 2.8-fold smaller. The results show that the usual laboratory measurement of cell survival over 2 or 3 logs of cell killing, if fitted with a single LQ function, will yield alpha and beta values which may give a rather poor description of cell inactivation at low dose in asynchronous cells, no matter how carefully those measurements are done, unless the low-dose range is fitted separately. The contribution of killing represented by the beta coefficient at low doses was found to be surprisingly large, accounting for 40-70% of cell inactivation at 2 Gy in these cell lines. A two-population LQ model provides excellent fits to the data for most of the cell lines though, as one might expect with a five-parameter model, the best-fitting value of the various parameters is far from unique, and the values are probably not reliable indicators of the size and radiosensitivity of the different cell subpopulations. At very low dose, below 0.5-1 Gy, another order of substructure is observed: the hypersensitive response; this is described in the accompanying paper (Wouters et al., Radiat. Res. 146, 399-413, 1996).

J L D Skarsgard, M W Skwarchuk, B G Wouters, R E Durand (1996)

Radiat Res., Vol.146(4), pp.388-98, 1996

Substructure in the radiation survival response at low dose in cells of human tumor cell lines

L D Skarsgard, M W Skwarchuk, B G Wouters, R E Durand

In earlier studies using asynchronously growing Chinese hamster cells, we observed substructure in the survival response at low doses. The substructure appeared to result from subpopulations of cells having different, cell cycle phase-dependent radiosensitivity. We have now applied the same flow cytometry and cell sorting technique to accurately measure the responses of cells of eight different asynchronously growing human tumor cell lines, representing a wide range in radiosensitivity. When the data were fitted with a linear-quadratic (LQ) function, most of these lines showed substructure similar to that observed in Chinese hamster cells, with the result that values of alpha and beta were dependent on the dose range used for fitting. Values of alpha describing the low-dose response were typically smaller (by as much as 2.2 times) than the alpha describing the high-dose response, while values of beta were larger at low doses. Values of alpha/beta from our measurements are in reasonable agreement with other values published recently if we fit the data for the high-dose range (excluding, for example, 0-4 Gy), which corresponds to a conventional survival response measurement. However, the values of alpha/beta describing the low-dose range were, on average, 2.8-fold smaller. The results show that the usual laboratory measurement of cell survival over 2 or 3 logs of cell killing, if fitted with a single LQ function, will yield alpha and beta values which may give a rather poor description of cell inactivation at low dose in asynchronous cells, no matter how carefully those measurements are done, unless the low-dose range is fitted separately. The contribution of killing represented by the beta coefficient at low doses was found to be surprisingly large, accounting for 40-70% of cell inactivation at 2 Gy in these cell lines. A two-population LQ model provides excellent fits to the data for most of the cell lines though, as one might expect with a five-parameter model, the best-fitting value of the various parameters is far from unique, and the values are probably not reliable indicators of the size and radiosensitivity of the different cell subpopulations. At very low dose, below 0.5-1 Gy, another order of substructure is observed: the hypersensitive response; this is described in the accompanying paper (Wouters et al., Radiat. Res. 146, 399-413, 1996).

References

- [1] Alsbeih G, Al-Meer RS, Al-Harbi N, et al. *A Logarithmic Formula to Describe the Relationship between the Increased Radiosensitivity at Low Doses and the Survival at 2 Gray*. Sultan Qaboos Univ Med J. 2013;13(4):538-543.
- [2] Al-Mayah A, Irons SL, Mothersill C, Kadhim M. *Genomic instability in non-targeted human cells*. Mutat Res. 2022;823:111756.
- [3] Andaur R, Morales D, Fernández M. *Low-dose hyper-radiosensitivity in colorectal cancer cells: role of DNA damage response*. Radiat Oncol. 2018;13:89.
- [4] Bakkenist CJ, Kastan MB. *DNA damage activates ATM through intermolecular autophosphorylation and dimer dissociation*. Nature. 2003;421(6922):499-506.
- [5] Cerri M, Tinganelli W, Negrini M, et al. *Hibernation for space travel: impact on radioprotection*. Life Sci Space Res. 2016;11:1-9.
- [6] Cerri M, et al. *Hibernation and radioprotection: gene expression in the liver and testicle of rats irradiated under synthetic torpor*. Int J Mol Sci. 2019;20(2):352.
- [7] Center for Alaska Native Health Research (CANHR). *Hibernation and DNA Repair*. University of Alaska Fairbanks. 2019-2024.
- [8] Choukèr A, et al. *European Space Agency's hibernation (torpor) strategy for deep space missions: linking biology to engineering*. Neurosci Biobehav Rev. 2019;131:618-626.
- [9] Carey HV, Andrews MT, Martin SL. *Mammalian hibernation: cellular and molecular responses to depressed metabolism and low temperature*. Physiol Rev. 2003;83(4):1153-1181.

- [10] Collis SJ, Schwaninger JM, Ntambi AJ, et al. *Evasion of early cellular response mechanisms following low level radiation-induced DNA damage.* J Biol Chem. 2004;279(48):49624-49632.
- [11] Dai X, Tao D, Wu H, Cheng J. *Low dose hyper-radiosensitivity in human lung cancer cell line A549 and its possible mechanisms.* J Huazhong Univ Sci Technolog Med Sci. 2009;29(1):101-106.
- [12] Das S. *Radiobiological response of cervical cancer cell line in low dose region: evidence of low dose hypersensitivity (HRS) and induced radioresistance (IRR).* J Clin Diagn Res. 2015;9(7):XC01-XC04.
- [13] Dionet C, Müller-Barthélémy M, Marceau G, et al. *Low-dose radiation hyper-radiosensitivity in multicellular tumour spheroids.* Br J Radiol. 2012;85(1018):e823-e830.
- [14] Drew KL, Buck CL, Barnes BM, Christian SL, Rasley BT, Harris MB. *Central nervous system regulation of mammalian hibernation: implications for metabolic suppression and ischemia tolerance.* J Neurochem. 2007;102(6):1713-1726.
- [15] Ghosh S, Indracanti N, Bhattacharya J, et al. *Pharmacologically induced reversible hypometabolic state mitigates radiation induced lethality in mice.* Sci Rep. 2017;7:14900.
- [16] Hanu AM, Patel DJ. *Low-dose hyper-radiosensitivity in esophageal adenocarcinoma.* Int J Radiat Oncol Biol Phys. 2017;99(2):E573.
- [17] Hermann RM, Christiansen H, Germer CT, et al. *Low-dose hyper-radiosensitivity in prostate cancer cell lines.* Strahlenther Onkol. 2008;184(3):168-173.
- [18] Hermes-Lima M, Storey JM, Storey KB. *Antioxidant defenses and metabolic depression in a pulmonate land snail.* Am J Physiol. 1998;275(5):R1531-R1540.
- [19] Guirado D, Ruiz-Arrebola S, Sánchez-Reyes A. *Low-dose radiation hyper-radiosensitivity in multicellular tumour spheroids.* Br J Radiol. 2012;85(1018):e1155-e1162.
- [20] Fernet M, Mégnin-Chanet F, Hall J, Favaudon V. *Control of the G2/M checkpoints after exposure to low doses of ionising radiation: implications for hyper-radiosensitivity.* DNA Repair. 2010;9(1):48-57.
- [21] Hawkins RB. *A statistical theory of cell killing by radiation of varying linear energy transfer.* Radiat Res. 1994;140(3):366-374.
- [22] Joiner MC, Lambin P, Malaise EP, Robson T, Arrand JE, Skov KA, Marples B. *Hypersensitivity to very-low single radiation doses: its relationship to the adaptive response and induced radioresistance.* Mutat Res. 1996;358(2):171-183.
- [23] Joiner MC, Johns H. *Renal damage in the mouse: the response to very small doses per fraction.* Radiat Res. 1988;114(2):385-398.
- [24] Joiner MC, Marples B, Lambin P, Short SC, Turesson I. *Low-dose hypersensitivity: current status and possible mechanisms.* Int J Radiat Oncol Biol Phys. 2001;49(2):379-389.
- [25] Kellerer AM, Rossi HH. *The theory of dual radiation action.* Curr Top Radiat Res Q. 1972;8:85-158.
- [26] Krueger SA, Joiner MC, Weinfeld M, Piasentin E, Marples B. *Role of apoptosis in low-dose hyper-radiosensitivity.* Radiat Res. 2007;167(3):260-267.
- [27] Krueger SA, Wilson GD, Piasentin E, Joiner MC, Marples B. *The effects of G2-phase enrichment and checkpoint abrogation on low-dose hyper-radiosensitivity.* Int J Radiat Oncol Biol Phys. 2010;77(5):1509-1517.
- [28] Kruman II, Ilyasova EN, Rudchenko SA, Khurkhulu ZS. *The intestinal epithelial cells of ground squirrel (Citellus undulatus) accumulate at G2 phase of the cell cycle throughout a bout of hibernation.* Comp Biochem Physiol A. 1988;90(2):233-236.
- [29] Koval TM. *Multiphasic survival response of a radioresistant lepidopteran insect cell line.* Radiat Res. 1984;98(3):642-648.
- [30] Lambin P, Marples B, Fertil B, Malaise EP, Joiner MC. *Hypersensitivity of a human tumour cell line to very low radiation doses.* Int J Radiat Biol. 1993;63:639-650.
- [31] Lambin P, Marples B, Fertil B, Malaise EP, Joiner MC. *Hypersensitivity of a human tumour cell line to very low radiation doses.* Int J Radiat Biol. 1994;63(5):639-650.
- [32] Lambin P, Fertil B, Malaise EP, Joiner MC. *Multiphasic survival curves for cells of human tumor cell lines: induced repair or hypersensitive subpopulation?* Radiat Res. 1996;138(1 Suppl):S32-S36.
- [33] Lind BK, Persson LM, Edgren MR, Hedlöf I, Brahme A. *Repairable-conditionally repairable damage model based on dual Poisson processes.* Radiat Res. 2003;160(3):366-375.
- [34] Martin LM, Marples B, Coffey M, et al. *DNA mismatch repair and the DNA damage response to ionizing radiation: making sense of apparently conflicting data.* Cancer Treat Rev. 2013;39(8):S34-S42.
- [35] Madas BG. *Computational modeling of low dose hyper-radiosensitivity and induced radioresistance applying the principle of minimum mutation load.* Radiat Prot Dosimetry. 2019;183(1-2):147-152.
- [36] Marples B, Joiner MC. *The response of Chinese hamster V79 cells to low radiation doses: evidence of enhanced sensitivity of the whole cell population.* Radiat Res. 1993;133(1):41-51.
- [37] Marples B, Adomat H, Koch CJ, Skov KA. *Response of V79 cells to low doses of X-rays and negative pi-mesons: clonogenic survival and DNA strand breaks.* Int J Radiat Biol. 1996;70(4):429-436.
- [38] Marples B, Lambin P, Skov KA, Joiner MC. *Low dose hyper-radiosensitivity and increased radioresistance in mammalian cells.* Int J Radiat Biol. 1997;71(6):721-735.
- [39] Marples B, Wouters BG, Collis SJ, Chalmers AJ, Joiner MC. *Low-dose hyper-radiosensitivity: a consequence of ineffective cell cycle arrest of radiation-damaged G2-phase cells.* Radiat Res. 2004;161(3):247-255.
- [40] Marples B, Collis SJ. *Low-dose hyper-radiosensitivity: past, present, and future.* Int J Radiat Oncol Biol Phys. 2008;70(5):1310-1318.
- [41] Matsuya Y, Sasaki K, Yoshii Y, Okuyama G, Date H. *Modeling cell survival and change in amount of DNA during protracted irradiation.* J Radiat Res. 2017;58(3):302-312.
- [42] Matsuya Y, McMahon SJ, Tsutsumi K, et al. *Integrated Modelling of Cell Responses after Irradiation for DNA-Targeted Effects and Non-Targeted Effects.* Sci Rep. 2018;8(1):4849.
- [43] Murray D, Prager A, Mirzayans R. *Hypothermia postpones DNA damage repair in irradiated cells and protects against cell killing.* Mutat Res. 2020;836:27-35.

- [44] Musacchia XJ, Barr RE. *Survival of whole-body-irradiated hibernating and active ground squirrels; Citellus tridecemlineatus*. Radiat Res. 1968;33(2):348-356.
- [45] Nordeen CA, Martin SL. *Engineering human stasis for long-duration spaceflight*. Physiology. 2019;34(2):101-111.
- [46] Olobatuyi O, de Vries G, Hillen T. *Effects of G2-checkpoint dynamics on low-dose hyper-radiosensitivity*. J Math Biol. 2018;77(6-7):1969-1997.
- [47] Orr AL, Lohse LA, Drew KL, Bhardwaj S. *Physiological oxidative stress after arousal from hibernation in Arctic ground squirrel*. Comp Biochem Physiol A. 2009;153(2):213-221.
- [48] Pan P, van Breukelen F. *Transcriptional activation of p53 during cold induced torpor in the 13-lined ground squirrel Ictidomys tridecemlineatus*. Biochem Biophys Rep. 2016;5:513-517.
- [49] Polgár S, Schofield PN, Madas BG. *Datasets of in vitro clonogenic assays showing low dose hyper-radiosensitivity and induced radioresistance*. Sci Data. 2022;9:555.
- [50] Rothkamm K, Löbrich M. *Evidence for a lack of DNA double-strand break repair in human cells exposed to very low x-ray doses*. Proc Natl Acad Sci USA. 2003;100(9):5057-5062.
- [51] Ryan LA, Wilkins RC, McFarlane NM, et al. *Relative biological effectiveness of 280 keV neutrons for apoptosis in human lymphocytes*. Health Phys. 2009;96(1):39-47.
- [52] Schwartz C, Hampton M, Andrews MT. *Seasonal and regional differences in gene expression in the brain of a hibernating mammal*. PLoS One. 2013;8(3):e58427.
- [53] Short SC, Mitchell SA, Boulton P, Woodcock M, Joiner MC. *The response of human glioma cell lines to low-dose radiation exposure*. Int J Radiat Biol. 1999;75(11):1341-1348.
- [54] Short SC, Woodcock M, Marples B, Joiner MC. *Effects of cell cycle phase on low-dose hyper-radiosensitivity*. Int J Radiat Biol. 2003;79(2):99-105.
- [55] Skov K, Marples B, Matthews JB, Joiner MC, Zhou H. *A preliminary investigation into the extent of increased radioresistance or hyper-radiosensitivity in cells of hamster cell lines known to be deficient in DNA repair*. Radiat Res. 1994;138(1 Suppl):S126-S129.
- [56] Stouten S, Balkenende B, Roobol L, Lunel SV, Badie C, Dekkers F. *Hyper-radiosensitivity affects low-dose acute myeloid leukemia incidence in a mathematical model*. Radiat Environ Biophys. 2022;61(3):361-373.
- [57] Storey KB, Storey JM. *Metabolic rate depression: the biochemistry of mammalian hibernation*. Adv Clin Chem. 2010;52:77-108.
- [58] Telford WG. *Flow cytometry and cell sorting*. Front in Med (Lausanne). 2023;10:1287884. doi: 10.3389/fmed.2023.1287884
- [59] Tinganelli W, Hitrec T, Gevi F, et al. *Hibernation and radioprotection: gene expression in the liver and testis of rats irradiated under synthetic torpor*. Int J Mol Sci. 2019;20(2):352.
- [60] Wouters BG, Skarsgard LD. *Low-dose hypersensitivity and increased radioresistance in a panel of human tumor cell lines with different radiosensitivity*. Radiat Res. 1996;146(4):399-413.
- [61] Wouters BG, Skarsgard LD. *The response of a human tumor cell line to low radiation doses: evidence of enhanced sensitivity*. Radiat Res. 1997;138(1 Suppl):S76-S80.
- [62] Wu CW, Storey KB. *Pattern of cellular quiescence over the hibernation cycle in liver of thirteen-lined ground squirrels*. Cell Cycle. 2012;11(9):1714-1726.
- [63] Xu B, Kim ST, Lim DS, Kastan MB. *Two molecularly distinct G2/M checkpoints are induced by ionizing irradiation*. Mol Cell Biol. 2002;22(4):1049-1059.
- [64] Xue J, Zong Y, Li PD, Wang LX, Li YQ, Niu YF. *Low-dose hyper-radiosensitivity in human hepatocellular HepG2 cells is associated with Cdc25C-mediated G2/M cell cycle checkpoint control*. Int J Radiat Biol. 2016;92(10):543-547.