

# DES OUTILS PHYSIQUES POUR ÉTUDIER LES LÉSIONS RADIO-INDUITES

*Lorsque des rayonnements ionisants pénètrent dans un milieu biologique, ils entrent en collision avec les atomes traversés et, au cours des interactions successives, cèdent de l'énergie, produisant ainsi des effets observables comme des lésions de l'ADN dans la cellule. Établir un rapport entre événements physiques initiaux et effets biologiques est un objectif constant des chercheurs en radiobiologie, en radiothérapie et en radioprotection. Deux approches cohabitent aujourd'hui, l'une fondée sur la corrélation entre la dose absorbée ou la distribution des dépôts d'énergie et l'effet biologique observé, l'autre sur le calcul de trace, censé suivre les interactions des particules en jeu jusqu'au bout de leur trajet pour modéliser les effets initiaux des rayonnements. Elles sont d'autant plus utiles que les concepts classiques de cibles d'un rayonnement pourraient être remis en question.*



Antoine Gonin/CEA

*La localisation de radionucléides émetteurs de rayonnements à faibles parcours peut conduire à des expositions très hétérogènes des cellules et composants intra-cellulaires réclamant une analyse microdosimétrique des distributions de dépôts d'énergie à l'échelle de ces "cibles". Pour accéder à la microdistribution des radionucléides, l'IPSN met en œuvre des techniques de microanalyse comme le microscope analytique SIMS (Secondary Ion Mass Spectrometry). Fonctionnant selon le principe d'un microscope à balayage électronique, la microscopie ionique remplace le faisceau d'électrons primaire par un faisceau d'ions permettant l'analyse élémentaire de surfaces solides.*



## Les limites des outils classiques

En traversant un milieu biologique, les **rayonnements ionisants** perdent de l'énergie en heurtant les atomes rencontrés. Ces interactions se traduisent par l'ionisation (arrachement d'un électron) et l'excitation (apport d'énergie)

des atomes de ce milieu le long des trajectoires des particules ionisantes. Au niveau des **cellules**, ces événements initiaux déclenchent une cascade de phénomènes susceptibles de conduire à des **effets biologiques** observables. Pour des systèmes biologiques simples, de telles manifestations apparaissent déjà à de faibles **doses** d'exposition. Ce fait, bien connu, peut sembler surprenant. En effet, l'impact du rayonnement sur la cellule a pour premières conséquences de créer

directement ou indirectement un nombre de lésions (voir *Les dommages radio-induits des acides nucléiques*) proche de celui des lésions qui se produisent spontanément. Or, ces dommages spontanés sont presque tous remarquablement réparés (voir *Les gardiens du génome*). Les interactions physiques entre le rayonnement et le milieu cellulaire présenteraient donc des caractéristiques spécifiques liées à la capacité plus ou moins grande du rayonnement à induire tel ou

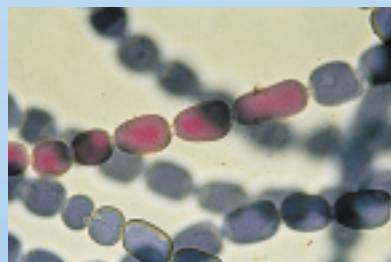
tel effet biologique, en fonction de la dose délivrée, capacité qui définit leur **efficacité biologique** (encadré 1).

Les outils physiques d'investigation classiques, indispensables à la modélisation des lésions biologiques radio-induites, s'appuient sur deux paramètres : la *fluence*, qui représente la quantité de particules ionisantes frappant le milieu, et la *section efficace d'interaction*, qui traduit la probabilité pour ces particules d'entrer en collision avec

## Les facteurs de l'efficacité biologique

1

L'induction de **mutations** par divers types de rayonnement, y compris aux faibles doses, est analysée chez la *Tradescantia*, une fleur assez commune, particulièrement sensible aux agents **mutagènes**, comme les rayonnements ionisants. La *Tradescantia* contient un grand nombre d'étamines, organes mâles renfermant le pollen, de couleur bleue. Sur la variété utilisée, les rayonnements créent des mutations se manifestant par un changement de couleur des cellules qui constituent les poils des étamines (illustration). Le phénomène de mutation est donc directement observable.



UNIVERSITÉ CATHOLIQUE DE LOUVAIN/Laboratoire de radiobiologie et de radioprotection

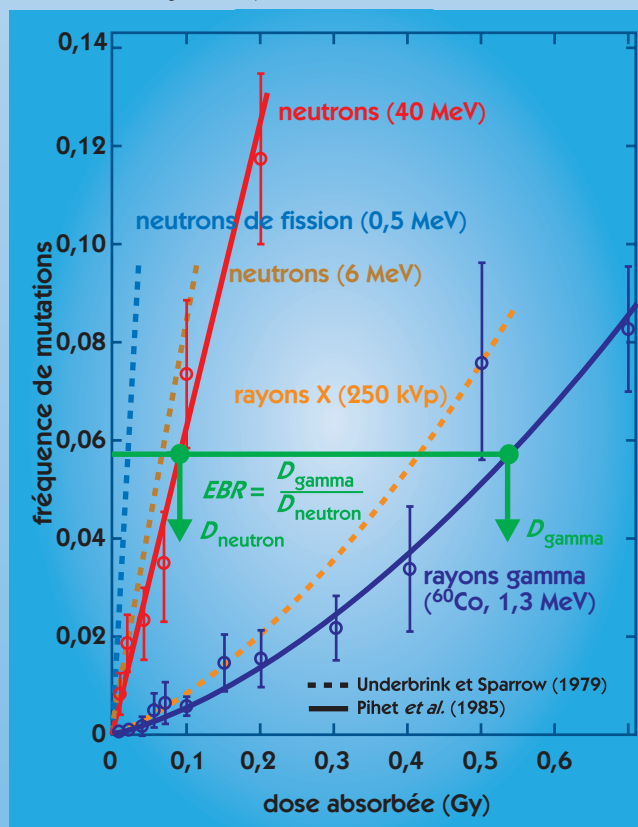
La fréquence, ou probabilité d'apparition, de mutations observée en fonction de la **dose absorbée** chez la *Tradescantia* est représentée sur le schéma ci-contre pour des rayonnements ionisants de nature et d'énergie différentes. La dose absorbée traduit l'énergie absorbée localement dans le milieu. Elle est définie par la valeur moyenne de la densité massique d'énergie absorbée au point considéré.

Les courbes dose-effet montrent de très nettes différences jusqu'aux faibles doses. Lors de l'interaction entre le rayonnement et le milieu biologique,

l'importance de l'effet provoqué est en effet liée au transfert d'énergie. Or, les particules ionisantes se distinguent par leur **transfert linéique d'énergie** (*TLE*), qui correspond à la densité d'énergie absorbée par le milieu rapportée à l'unité de longueur de la trajectoire de la particule. Indirectement ionisants, les neutrons et les

photons sont caractérisés par le *TLE* moyen des particules chargées qu'ils engendrent dans le milieu. La densité d'ionisations sur la trajectoire de la particule est en moyenne beaucoup plus forte (jusqu'à 100 fois) pour des neutrons que pour des photons.

Sur le schéma, la "pente" des courbes dose-effet, qui traduit l'importance des dommages induits aux brins d'ADN de la *Tradescantia*, illustre la classification communément admise entre les rayonnements à *TLE* faible, ici des rayons X et gamma, et ceux à *TLE* élevé, ici des neutrons. L'**efficacité biologique relative** (*EBR*) d'un rayonnement vis-à-vis d'un autre est égale au rapport des doses absorbées nécessaires pour produire un même effet biologique sur un système donné.



UNIVERSITÉ CATHOLIQUE DE LOUVAIN/Laboratoire de radiobiologie et de radioprotection

les atomes de ce milieu. Cependant, ces outils se révèlent insuffisants pour caractériser l'efficacité biologique du rayonnement car c'est moins l'impact de ce dernier sur une "cible" biologique que le transfert d'énergie l'accompagnant qui signe l'importance des lésions primaires produites. Couramment utilisée en radiobiologie, la notion de **dose**

**absorbée** (encadré 1) a toutefois ses limites pour apprécier un effet biologique puisqu'à l'échelle microscopique l'énergie n'est pas délivrée de façon continue mais par paquets variables en nombre et en densité, l'interaction entre le rayonnement et le milieu étant un phénomène essentiellement statistique. Une grandeur moyenne ne traduit donc pas

les fluctuations statistiques, parfois très larges, des dépôts d'énergie qui surviennent de manière aléatoire dans de petits volumes comparables à des cellules. La dose absorbée ne prend toute sa signification que dans des conditions d'exposition uniforme par rapport à l'étendue de la cible étudiée (tissu, cellule, **ADN**). Il a par conséquent été

## La microdosimétrie des rayonnements ionisants

2

Au sein d'un milieu biologique, le dépôt d'énergie dans un volume défini par sa masse  $m$  et sa taille est déterminé par l'énergie cédée  $\epsilon$  le long de la trajectoire  $\ell$ , dans la cible présumée, par la particule incidente et les particules associées. Il est exprimé par des **grandeurs microdosimétriques stochastiques**, l'énergie spécifique  $z$  et l'énergie linéale  $y$ , qui rapportent respectivement l'énergie cédée à la masse de la cible et à la longueur moyenne des trajectoires aléatoires dans la cible.

Les **fluctuations statistiques** du dépôt d'énergie sont représentées par :

- la distribution des fréquences des dépôts d'énergie ou "événements" pris un à un,  $f_1(z)$  ou  $f_1(y)$ , et la distribution de dose dérivée [ $\sim y \cdot f_1(y)$ ] ou spectre microdosimétrique ;

ou

- la distribution d'énergie spécifique sur l'ensemble des cibles due à 0, 1, 2, ...,  $n$  événements en fonction de la dose d'exposition  $D$ ,  $f(z, D)$ .

La **relation à la dose absorbée** est donnée par :

$$D = \lim_{m \rightarrow 0} \frac{\bar{z}}{m}$$

avec

$$\bar{z} = \int z f(z, D) dz.$$

Il s'en déduit :

$$\bar{n} = \frac{\bar{z}}{z_1},$$

qui correspond au nombre moyen d'événements dans la cible présumée pour une dose d'exposition  $D$ .

Connaissant les distributions  $f(z, D)$  et  $f_1(z)$ , ou  $f_1(y)$ , si les données biologiques sont suffisantes, des corrélations phénoménologiques peuvent être recherchées pour établir des fonctions de réponse biologique empiriques  $e(z)$  ou  $e(y)$ . Celles-ci permettent de pré-

dire l'**effet biologique**,  $E(D)$ , suivant une relation du type :

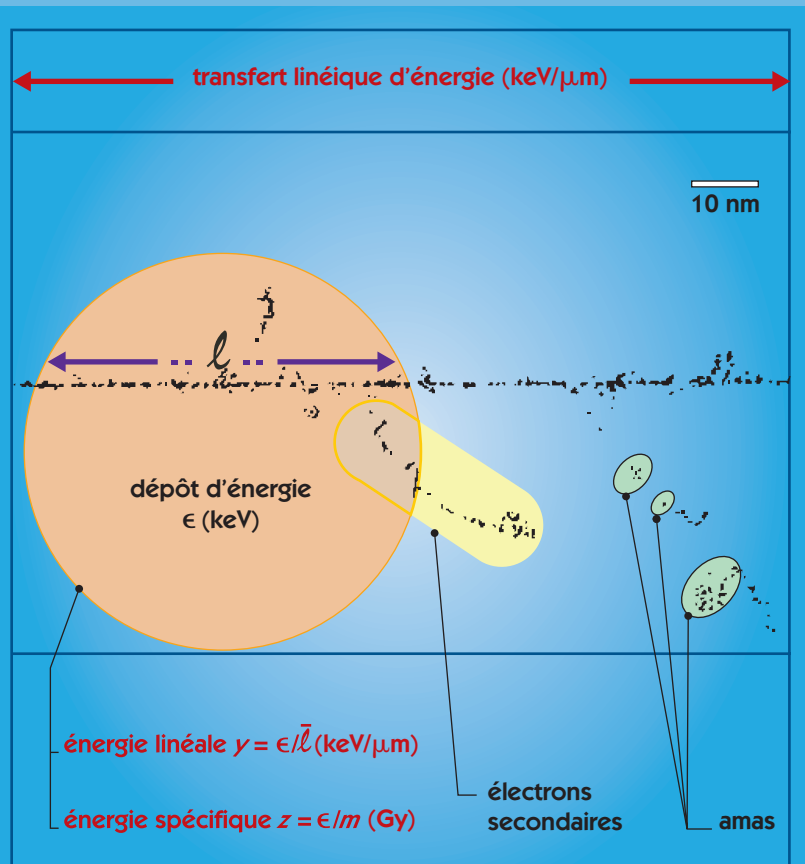
$$E(D) \sim \int e(z) f(z, D) dz.$$

À faible dose, l'**efficacité biologique**,  $E(D)/D$ , du rayonnement se déduit d'une relation du type :

$$E(D) \sim D \int e(y) f_1(y) dy.$$

Le schéma ci-dessous montre une trace de particule ionisante et les paramètres caractéristiques du dépôt d'énergie dans une cible simulant un **noyau cellulaire**, généralement une sphère de quelques dizaines de nanomètres à quelques micromètres ( $1 \mu\text{m} = 10^{-6} \text{m}$ ) de diamètre. Toutefois, les électrons

secondaires énergétiques, issus de l'ionisation des atomes de la cible par les électrons éjectés lors des ionisations initiales, qui s'éloignent de la trajectoire de la particule terminent leur course par des concentrations locales élevées d'ionisations ou "amas" d'électrons secondaires. De même, les électrons éjectés à grande vitesse au cours des ionisations initiales, appelés électrons delta, forment des concentrations locales élevées d'ionisations en fin de parcours. Ces dépôts d'énergie peuvent avoir un impact important à l'échelle subcellulaire.



(D'après GOODHEAD, D. T., *The Dosimetry of Ionizing Radiation*, Vol II, édité par K. R. Kase, B. E. Bjängard et F. H. Attix, Academic Press Inc., London, 1987, p. 1-78).

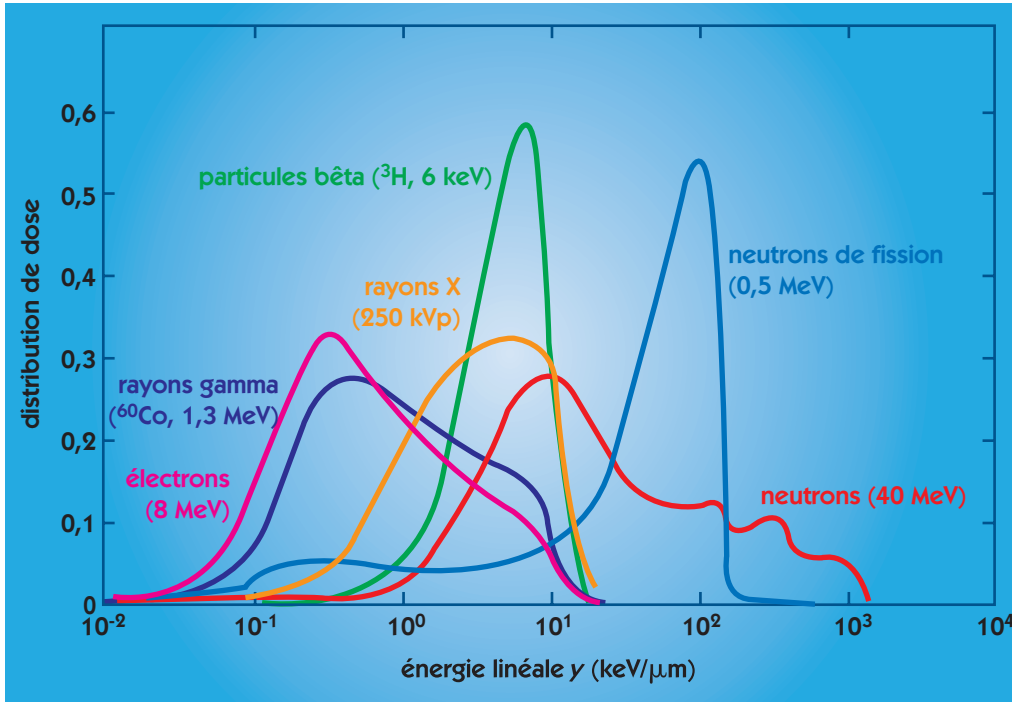


Figure 1. Spectres microdosimétriques établis pour une cible biologique de diamètre 1 µm pour divers rayonnements directement (électrons) et indirectement (gamma, X, neutrons) ionisants. Cette représentation a permis d'étudier la validité de relations simplifiées de l'efficacité biologique relative pour prédire les variations de ce coefficient d'un rayonnement à l'autre dans différentes applications en radiothérapie et en radioprotection.



nécessaire de développer des outils permettant une représentation physique plus fine de l'énergie cédée à l'échelle des cibles biologiques.

### L'analyse du dépôt d'énergie

L'impact physique d'une particule ionisante sur un milieu biologique est finement décrit par la "trace" de la particule, étudiée point par point d'interaction, sur un grand nombre de trajectoires. Cette information est rendue accessible par des techniques de calcul aléatoire et les capacités accrues des outils informatiques. Elle n'en reste pas moins trop détaillée pour répondre directement aux besoins de la radiobiologie, sauf à la simplifier en la réduisant à quelques paramètres caractéristiques et à la fluctuation statistique autour de leur valeur moyenne.

Si l'énergie transférée par la particule au milieu biologique est en moyenne bien représentée par la densité d'ionisations sur son parcours, ou encore par le TLE, la microdosimétrie réalise une approche différente en s'intéressant au dépôt d'énergie, défini par l'énergie cédée dans un volume censé simuler une cible biologique, coupé par la trajectoire de la particule. La microdosimétrie décrit la fluctuation du dépôt d'énergie d'une trajectoire à l'autre et la balistique de ces trajectoires dans des cibles de dimension choisie, exposées à

une dose de rayonnement donnée (encadré 2). L'intérêt est de pouvoir aligner une large gamme de rayonnements directement ou indirectement ionisants sur un même modèle de représentation afin de comparer l'efficacité biologique des rayonnements entre eux (figure 1) à défaut d'en comprendre les mécanismes. La microdosimétrie permet de comparer numériquement divers rayonnements ionisants par la fréquence et la taille moyenne des dépôts d'énergie, ou "événements", dans la cible présumée (tableau).

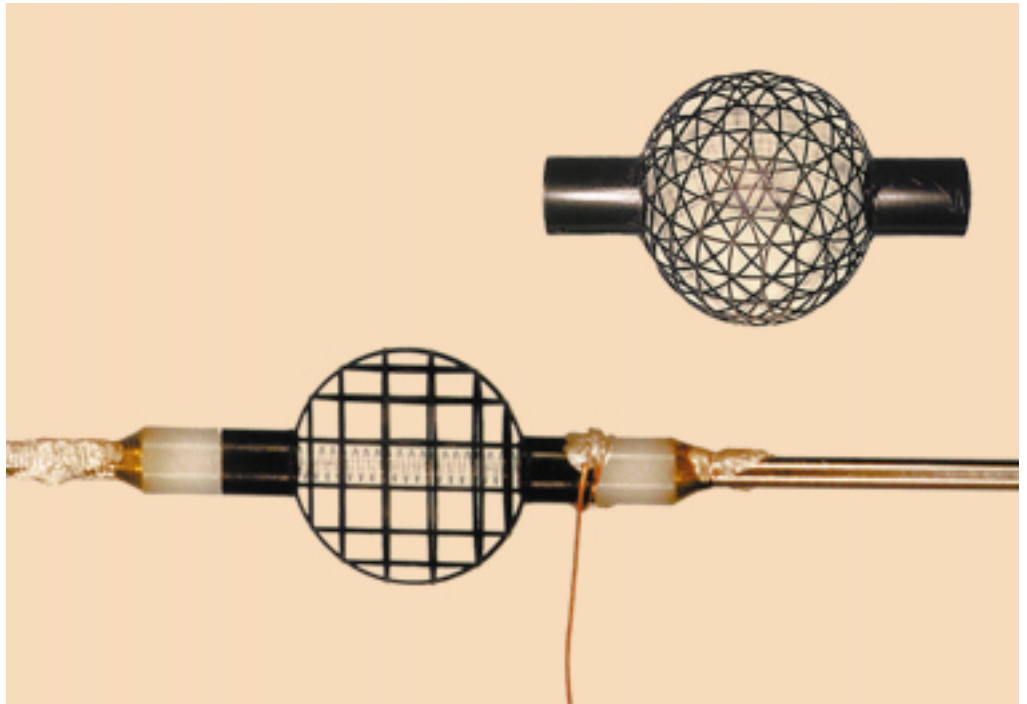
### Le dépôt d'énergie : un outil puissant pour la dosimétrie

La relation entre la dose absorbée et la distribution des dépôts d'énergie est un outil puissant pour la radiobiologie et ses applications, en radiothérapie et en radioprotection. La comparaison du schéma de l'encadré 1 et de la figure 1 explique la démarche générale qui consiste à relier le résultat observable des lésions radio-induites au produit de la dose absorbée

rayonnements \ cibles	noyau cellulaire (~ 1 µm)	fibre d'ADN (~ 10 nm)	molécule d'ADN (~ 2 nm)	paramètres
rayons gamma (⁶⁰Co, 1,3 MeV)	1,2	6·10 <sup>-6</sup>	7·10 <sup>-8</sup>	$\bar{n}$
	0,2	60	440	$\sigma_z$
	1,6	16,8	37,4	$\overline{y_D}$
rayons X (250 kVp)	0,5	5·10 <sup>-6</sup>	7·10 <sup>-8</sup>	$\bar{n}$
	0,3	60	440	$\sigma_z$
	3,35	17,5	38,3	$\overline{y_D}$
particules bêta (³H, 6 keV)	0,2	6·10 <sup>-6</sup>	6·10 <sup>-8</sup>	$\bar{n}$
	0,3	60	460	$\sigma_z$
	4,8	18,0	41,2	$\overline{y_D}$
neutrons de fission (0,5 MeV)	9·10 <sup>-3</sup>	10 <sup>-6</sup>	5·10 <sup>-8</sup>	$\bar{n}$
	1,3	135	730	$\sigma_z$
	85,5	90,2	104,4	$\overline{y_D}$

Tableau. Paramètres microdosimétriques évalués pour différents rayonnements ionisants et cibles biologiques simulées.  $\bar{n}$  représente le nombre moyen d'événements ou la fréquence des dépôts d'énergie dans la cible pour une dose d'exposition  $D = 0,1$  Gy ;  $\sigma_z$ , dont l'unité est le Gy, correspond à l'écart-type de l'énergie spécifique dans la cible pour la même dose d'exposition ;  $\overline{y_D}$ , exprimé en keV/µm, se rapporte à la valeur moyenne de l'énergie linéale, ou "taille" de l'événement, sur la distribution de dose.

Le compteur proportionnel utilisant une paroi et un gaz de compositions aussi proches que possible de celle du tissu biologique a largement contribué au développement de la microdosimétrie expérimentale. La photo montre des détecteurs où la paroi solide a été remplacée par une grille pour simuler la cible biologique de la manière la plus homogène possible. La dimension des compteurs (de quelques mm à quelques cm) et la pression de gaz sont ajustées en fonction de la taille de la cible simulée, classiquement de l'ordre de quelques micromètres. Cependant, de tels compteurs "miniatures" (dimension physique inférieure au mm) permettent aujourd'hui d'étudier des cibles nanométriques.



Gary Johnson/COLUMBIA UNIVERSITY/Center For Radiological Research

et d'un facteur de pondération estimant l'efficacité biologique relative (EBR) du rayonnement en fonction de son spectre microdosimétrique. L'intérêt de cette formulation est d'abord pratique puisque les spectres microdosimétriques peuvent être évalués pour presque tous les rayonnements et même être mesurés dans des conditions difficiles à simuler par le calcul, comme dans des champs de rayon-

nement complexes. Il s'agit toutefois d'applications purement phénoménologiques.

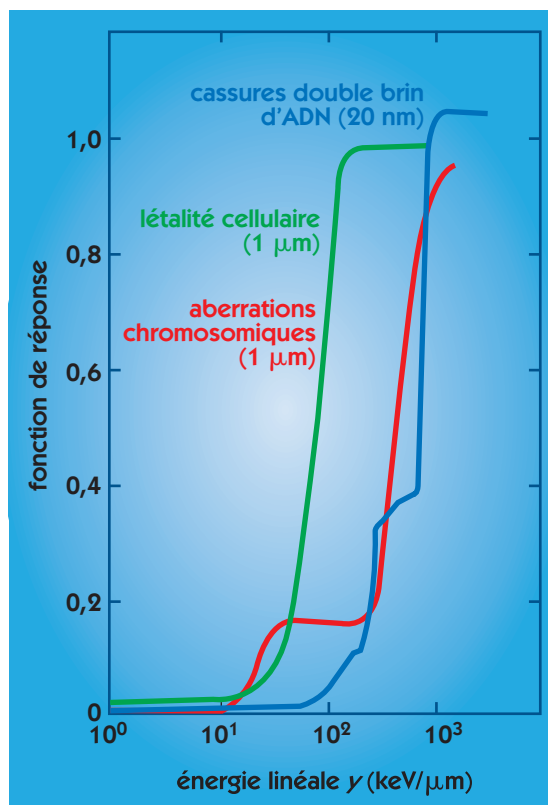
### Une approche essentiellement empirique

Le dépôt d'énergie est une expression des événements primaires, des ionisations et des excitations, déclenchés par le passage du rayonnement dans la cible

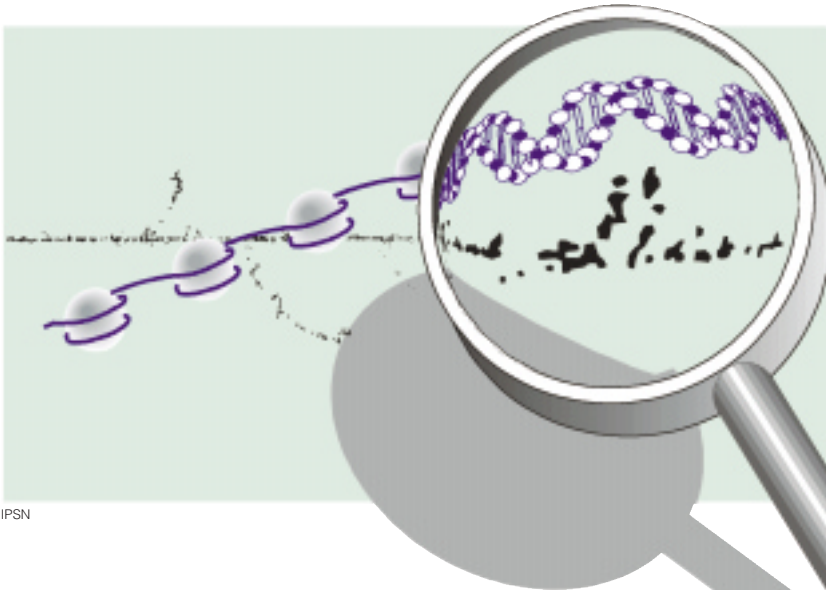
biologique. En raison des nombreux mécanismes qui interviennent par la suite, la connaissance de ces événements ne permet pas de rendre compte de l'effet biologique constaté, comme il est difficile de relier cet effet aux dommages moléculaires initiaux. En première analyse, seules des corrélations empiriques peuvent donc être tentées en rapprochant le dépôt d'énergie des effets biologiques observés dans les mêmes conditions. La relation dose-effet en est le premier exemple. En microdosimétrie, cette approche phénoménologique revient à rechercher une fonction d'efficacité biologique ou "fonction de réponse" (encadré 2), parfois établie de façon purement numérique, par ajustements successifs des données biologiques aux spectres microdosimétriques observés.

Une fois obtenues, ces fonctions de réponse peuvent être conjuguées avec les spectres microdosimétriques d'un rayonnement donné pour estimer le paramètre biologique visé en accord avec les données expérimentales qui ont été utilisées pour les établir initialement. Pour une cible biologique, ces fonctions déterminent la probabilité qu'un dépôt d'énergie donné produise tel ou tel effet spécifique (figure 2). Cette interprétation est assez immédiate pour un rayonnement de type bien défini. Lorsqu'il s'agit de plusieurs rayonnements, il est implicitement admis que le dépôt d'énergie est une informa-

Figure 2. Exemples de fonctions de réponse, sous la forme  $e(y)$ , établies en comparant les données biologiques observées pour différents types d'effets et les spectres microdosimétriques correspondant aux mêmes rayonnements et tailles de cibles présumées. La courbe relative à l'induction de dommages à l'ADN pourrait s'expliquer par l'expression de deux mécanismes, des cassures double brin d'emblée dues à des événements simples au-delà de  $600 \text{ keV}/\mu\text{m}$ , et des cassures double brin résultant de deux cassures simple brin pour des dépôts d'énergie inférieurs. La similitude des courbes relatives aux effets d'aberrations chromosomiques et de létalité cellulaire avec la précédente s'expliquerait par le fait que les lésions qui en sont à l'origine sont des cassures double brin.



(D'après MORSTIN, K., et al., Radiation Research 120 (1989) 383-402)



IPSN

**Simulation de la trace d'une particule au sein du milieu irradié. Des techniques de calcul aléatoire sont utilisées pour décrire, sur la base des sections efficaces d'interaction, le transport des électrons et des ions dans la matière. La distribution des ionisations et des excitations créées sur leur passage est ici représentée à l'échelle de la molécule d'ADN et de structures plus compactes comme les nucléosomes, unités élémentaires de la chromatine, complexe constitué par l'ADN cellulaire et des protéines.**



tion suffisante pour prédire l'effet biologique et que les fonctions de réponse sont indépendantes du rayonnement. Cette hypothèse n'a jamais été vraiment vérifiée mais elle est d'autant plus plausible que la dose est faible et que les événements sont rares.

Ces fonctions de réponse sont donc avant tout des relations empiriques, dans lesquelles la taille de la cible (tableau et figure 1) n'est pas un paramètre fixe, mais dépend de la corrélation obtenue. Ceci n'interdit pas d'interpréter *a posteriori* l'allure des fonctions de réponse suivant le critère biologique et la taille présumée de la cible, et de la relier à certains mécanismes de formation des lésions comme, par exemple, l'interaction de cassures simple **brin** de l'ADN ou la création simultanée de cassures double brin (figure 2).

### Le calcul de trace : un outil de recherche indispensable

Le dépôt d'énergie ne suffit pas pour comprendre d'emblée les mécanismes de formation des lésions, d'où l'intérêt d'une approche phénoménologique, certes plus réductrice et de portée plus limitée. Les effets importants induits par des rayonnements dont le parcours moyen est de l'ordre du nanomètre ( $1 \text{ nm} = 10^{-9} \text{ m}$ ) illustrent les limites de cette approche. Pour des électrons de très faibles énergies (inférieures à 1 keV) en particulier, la courbe dose-effet peut sous certaines conditions être semblable à celle obtenue pour des particules de haut *TLE*, ce qui conduit à s'interroger

sur la structure fine de l'événement initial à l'échelle subcellulaire.

Le calcul de trace se révèle un outil physique de recherche plus pointu que le dépôt d'énergie. Il permet en effet de décrire toutes les interactions des électrons secondaires qui "terminent" l'histoire de la particule primaire. La modélisation de la trace met en jeu des sections efficaces d'interaction. Elle offrira par exemple la possibilité de suivre la distribution des distances entre collisions. Pour accéder à ces informations statistiques et les comparer aux dommages de l'ADN observés, une simulation est réalisée sur un grand nombre de traces. Il est en particulier intéressant d'étudier les concentrations locales d'ionisations ou amas d'électrons secondaires (encadré 2) et la distribution spatiale de tels objets à l'échelle de l'ADN.

L'utilisation d'un de ces paramètres, *a priori* plus proche des dommages moléculaires initiaux, est séduisante. Par rapport au calcul du dépôt d'énergie ou de la dose absorbée, elle pourrait conduire à un "concept unifié" plus fondamental. Cette approche est cependant limitée par la fiabilité des calculs en raison des incertitudes sur les données physiques de base et de la complexité du milieu biologique. Néanmoins, le calcul de trace permet de mieux comprendre les mécanismes d'action du rayonnement. La capacité grandissante de la modélisation à prendre en compte les phénomènes physiques initiaux et le transport des espèces chimiques créées représente ici un atout précieux. Toutefois, les com-

munications intercellulaires compliquent fortement la modélisation. Il est par exemple possible d'observer des effets dans une cellule distante de celle touchée par le rayonnement.

### Quelle démarche pour l'avenir ?

Le choix entre dépôt d'énergie et calcul de trace dépend avant tout de la nature des données biologiques à interpréter. Le calcul de trace intéressera davantage une démarche mécaniste, en fournissant des données d'entrée à la modélisation, pour vérifier ou infirmer la validité des hypothèses sur la nature des lésions biologiques radio-induites. Le dépôt d'énergie et les grandeurs dérivées s'inscrivent plus dans la représentation physique de l'efficacité biologique en s'appuyant sur la corrélation entre les données observées pour le système biologique et l'application visée. Un des attraits de la recherche en microdosimétrie est sans doute de faire appel à ces deux démarches. Cependant, le défi des années à venir reste la possible remise en question du concept de cible d'un rayonnement. Elle pourrait amener à revoir profondément les modèles de représentation ainsi que la façon d'interpréter les données physiques.

**Pascal Pihet**

Département de protection de la santé de l'homme et de dosimétrie  
Institut de protection et de sûreté nucléaire  
Fontenay-aux-Roses