



HAL
open science

Dosimétrie pour la radiothérapie stéréotaxique par rayonnement synchrotron : d'une vision macroscopique aux considérations microscopiques des dépôts d'énergie.

Magali Edouard

► **To cite this version:**

Magali Edouard. Dosimétrie pour la radiothérapie stéréotaxique par rayonnement synchrotron : d'une vision macroscopique aux considérations microscopiques des dépôts d'énergie.. Physique [physics]. Université Joseph-Fourier - Grenoble I, 2010. Français. NNT : . tel-00512664

HAL Id: tel-00512664

<https://theses.hal.science/tel-00512664>

Submitted on 31 Aug 2010

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

UNIVERSITÉ de GRENOBLE

DOCTORAT de L'UNIVERSITÉ

École Doctorale Ingénierie pour la Santé, la Cognition et
l'Environnement

Discipline : Modèles, méthodes et algorithmes en biologie, santé
et environnement

Thèse soutenue publiquement par

Magali EDOUARD

le 9 juillet 2010

**Dosimétrie pour la radiothérapie
stéréotaxique par rayonnement
synchrotron :
d'une vision macroscopique aux
considérations microscopiques des
dépôts d'énergie.**

Composition du jury

Pr. Jean-François LE BAS

président

Dr. Brigitte RENIERS

rappotrice

Dr. Nicolas FREUD

rappoteur

Pr. Claude LE SECH

examineur

Pr. Jean COLIN

examineur

Dr Mehdi GMAR

examineur

Dr. Hélène ELLEAUME

directrice de thèse

Dosimétrie pour la radiothérapie stéréotaxique par rayonnement synchrotron : d'une vision macroscopique aux considérations microscopiques des dépôts d'énergie.

De nombreuses stratégies thérapeutiques sont explorées pour trouver un traitement curatif aux gliomes de haut grade pour lesquels il n'existe pas de réelle solution. Parmi ces techniques, la radiothérapie apporte une réponse significative mais limitée par un effet différentiel insuffisant pour éradiquer la tumeur tout en préservant les tissus sains. La radiothérapie stéréotaxique par rayonnement synchrotron permet d'augmenter cet effet différentiel en augmentant localement la dose de rayonnement au niveau de la tumeur, par l'effet synergique d'une irradiation avec des rayons-X de basse énergie (< 100 keV) en présence d'un élément lourd préalablement incorporé à la tumeur. Ce travail de doctorat s'inscrit dans le cadre de la préparation des essais cliniques de radiothérapie stéréotaxique prévus au synchrotron de Grenoble. Le premier objectif de ce travail a été l'optimisation des paramètres d'irradiation basée sur une étude dosimétrique globale des plans de traitement. Nous avons notamment montré l'intérêt d'utiliser un nombre fini et apparié de faisceaux correctement pondérés pour homogénéiser la dose dans la tumeur. La suite de ces travaux a consisté en l'étude de la répartition des dépôts d'énergie à l'échelle cellulaire prenant en compte la distribution fine de l'élément lourd dans le tissu (micro-dosimétrie). Il est en effet crucial que les photoélectrons générés sur les atomes lourds, qui restent dans l'espace extracellulaire dans le cas des agents de contraste iodés, puissent atteindre les cibles cellulaires. Cette approche microdosimétrique a été comparée à des résultats de survie cellulaire obtenus *in vitro*, soit sur un modèle cellulaire 3D (cellules tumorales cultivées sous forme de sphéroïdes), soit sur des cellules irradiées en suspension dans un milieu iodé.

Mots-clefs : calculs Monte-Carlo, rayons-X, dosimétrie, micro-dosimétrie, rayonnement synchrotron, sphéroïdes

Dosimetry for synchrotron stereotactic radiotherapy : from a macroscopic approach to microscopic energy deposits consideration.

Numerous therapeutic strategies are currently being evaluated to find a curative treatment for high grade glioma. Among them, radiation therapy is partially effective but limited by the insufficient differential effect that can be reached between the dose delivered to the tumor compared to the one received by the healthy tissues. Synchrotron stereotactic radiotherapy aims at increasing this differential effect with a localized dose boost obtained by low energy x-rays stereotactic irradiations (< 100 keV) in presence of heavy elements restricted to the target area. This PhD work takes place in the general context of the future clinical trials foreseen at the European Synchrotron Radiation Facility. The first objective was to optimize the dose delivery to the target, at a macroscopic scale. We have demonstrated in particular that an even number of weighted beams was required to homogenize the tumor dose distribution. Microdosimetry studies were then performed to evaluate the dose delivered at the cellular level, taking into account the fine high-Z element distribution. These theoretical results have been compared to *in vitro* studies. Cell survival studies were performed using either a 3D glioma model (spheroids) or cells irradiated in suspension in an iodinated medium.

Keywords : Monte-Carlo calculations, x-rays, dosimetry, micro-dosimetry, synchrotron radiation, spheroid

GIN Unité 836 INSERM Équipe 6 : "Rayonnement Synchrotron et Recherche Médicale", ESRF Medical Beamline, Grenoble

Bât. E.J. SAFRA-Site Santé UJF BP170 38042 GRENOBLE Cedex 09 - France

Remerciements

Peut être la page la plus difficile à écrire... la page la plus personnelle, la page où l'on dit merci à tous ceux qui ont participé à ces trois années de thèse, à ces trois années qui marquent et grâce auxquelles j'ai fait mon apparition dans le monde des grands, le monde « Professionnel »...

Petite je me disais : « plus tard, je serai experte comptable ou prof de maths... ». Originale, non?!? C'est après avoir apprécié la lecture de quelques annabac de physique-chimie que ma préférence pour les mathématiques fut remise en cause. En 2002, dans la file d'attente pour l'inscription à l'université, encore hésitante entre les maths et la physique, j'ai finalement coché la case « sciences de la matière ». Une chose est sûre, je ne regrette pas ! Expert comptable?!?

Caen, Lyon, Angers et « Grege » ! Ce n'était pourtant pas la suite prévue, j'avais envisagé Nantes et son centre anti-cancéreux. Mon choix initial fut remis en cause après une question de kernel à mon prof de dosimétrie (Jeff). La discussion a dévié et la question d'entreprendre une thèse s'est posée. Il m'a démontré par a plus b que je raterai quelque chose si je ne faisais pas au moins un temps de recherche. Me voilà convaincue et tentée de profiter de l'occasion pour faire un voyage. Le Québec ? C'est après quelques remarques Jeffouilloises, je cite : « C'est sur qu'une thèse chez les Caribous ça pète,... mais rien à coté de trois ans dans la capitale des Alpes RAS (pub). » que je me suis décidée et... me voilà embarquée pour trois ans sur Grenoble, la ville où les gens vont en boîtes avec des chaussures de randonnée, se promènent en polaire avec leurs skis sous le bras.

Merci Jeff pour m'avoir donné envie de faire cette thèse !

Passons sur les péripéties d'obtention de ma bourse de thèse qui m'auront value de faire l'achat d'un nombre inconsideré de chaussures : bottes vertes, sabots et autres paires de semelles angevines. Il fallait bien évacuer le stress !

J'en étais donc à mon arrivée sur Grenoble. Rdv le 1er octobre 2007 à 9h au poste de garde de l'ESRF. Première rencontre : Mr Sébastien Besse qui revenait du... Québec!!! Intégration plus que rapide, **merci Seb** ! Cohabitation bien sympathique dans le 18.1.26.

Et voilà le petit dernier qui pointe son nez, Petit Pierrot ! Sous ses airs de Viking et de grande brute, j'ai pu découvrir un parfait collègue de bureau. **Merci Pierre** pour nos longues discussions scientifiques ou non d'ailleurs, pour ta gentillesse et tes attentions, pour avoir su supporter mes joyeux craquages du vendredi après midi et ... de m'avoir présenté Marylin!!

Laurinette, merci pour ta présence tout d'abord féminine mais aussi scientifique, tes conseils de biologiste, et nos longues nuits dans le L2 à ensemercer un nombre indéfinissable de cellules jusqu'à ce qu'on remplisse tous les incubateurs. On aura fait une sacré équipe, sacrément efficace ! J'ai vraiment aimé travailler avec toi, fêter ma première publication à coup de Moët, les surnoms que tu donnes à bibi (incroyable) et merci pour ton soutien lors des coups durs ! **Merci Laure** !

J'ai appris beaucoup pendant cette thèse, scientifiquement et humainement. Tout le monde y a participé mais je voudrais remercier du fond du cœur une personne que j'estime beaucoup et qui a fortement contribué à ce que je suis devenue au fils de ces trois années. **Merci Hélène**.

Merci de m'avoir appris à travailler avec calme et efficacité. Merci d'être toujours disponible et de m'avoir permis de passer cette dernière année en douceur. Je crois que ta passion de la recherche m'a touchée. Merci pour ce bel exemple de professionnalisme, d'engagement, de femme passionnée et épanouie, sans oublier de gentillesse et d'attentions. Encore merci et ravie de faire partie du cercle fermé de tes ex-thésards, vivement les petits restos !

Merci aussi Mathias pour tes cours d'anglais quel que peu douteux néanmoins. **Merci François** pour ton accueil, ton petit côté chef qui ne fait pas de mal et qui n'enlève rien à ton accessibilité et à ta franchise. Merci pour tes encouragements pour la suite qui m'ont fait très plaisir. On verra bien ce que la suite me réserve...

Merci à Julia Rousseau pour s'être attaqué à mes fautes d'orthographe et de syntaxe. Pas une mince affaire ! Merci beaucoup, ravie que nos chemins se croisent et se recroisent.

Je remercie **Jean-François Le Bas** qui m'a fait l'honneur de présider mon jury de thèse, **Brigitte Reniers** et **Nicolas Freud** d'avoir eu la gentillesse d'être les rapporteurs de ce travail. Je remercie tout autant **Mehdi Gmar**, **Jean Colin** et **Claude Le Sech** d'avoir accepté d'être examinateur.

Merci au soutien de l'ESRF, à **Claudio Ferrero** et **Rainer Wilcke** sans qui je crois je n'aurais jamais démarré avec MCNPX. Merci à **Christian Nemoz** et **Thierry Brochard** pour leur bonne humeur et la préparation de nos manips. Merci à **Alberto Bravin**. Merci **Yolanda**, **Imma** et merci d'avance pour la découverte des rues de Barcelone.

Merci de la contribution de mes stagiaires à ce travail. Merci à **Charline Voileau**, **Marjorie Villien** et **Clément Bluteau**.

Merci à **Florence Taupin**, **Marion Vincent**, **Baptiste Laurent** et **Julien Le Bourhis** pour leur bonne humeur constante et leur soutien pour la fin de ma thèse, sacrée équipe de stagiaires !

Merci aussi à **Anne-Marie** pour la préparation de la soutenance.

Oulala, moi qui pensais ne pas écrire plus de 20 lignes et je n'ai toujours pas remercié mes amis et ma famille qui y sont eux aussi pour beaucoup !

Un énorme merci à ma famille qui m'a soutenue tout au long de ces études. **Merci Manou** pour tes coups de fils et tes petites prières avant les examens, **merci Maman** de m'avoir supportée pendant mes moments de stress et merci pour toutes tes attentions et ton soutien. **Merci Papa**, **Baptiste** et **Fabienne**. Merci d'être là et d'être tant pour moi, tant de soutien. Je vous dédicace cette thèse.

Franck... Merci ! A nos voyages, à nos projets ... ! Il est aussi pour toi ce pavé ! Mille fois merci !!!

Merci à tous mes amis qui ont rendu ma vie de thésarde grenobloise si sympathique, festive et enrichissante. **Merci Antoine**, **Mélanie**, **Julien**, **Seb**, **Jérôme**, **Noël**, **Laurent**, **Nico**, **Emilie**, **Marjo**, **Laure** et **Laure**, **Adeline B**, **Léa** et **Amalia** .

Et merci aussi à **Christophe**, **Delphine**, **Nico** et **Sandie**.

Mogali.



Table des matières

Introduction	1
1 Notions préliminaires	3
1.1 Dose et coefficients d'atténuation et d'absorption massiques	5
1.1.1 La dose	5
1.1.2 Interactions des rayons-X dans la matière	5
1.1.2.1 Effet photoélectrique	6
1.1.2.2 Diffusion cohérente	6
1.1.2.3 Diffusion Compton	6
1.1.2.4 Création de paires	6
1.1.2.5 Domaine de prédominance des interactions	6
1.1.3 Coefficient d'absorption massique	7
1.2 La radiothérapie externe	7
1.2.1 Fractionnement géométrique, effet balistique	8
1.2.2 Fractionnement temporel	8
1.3 Originalités de la radiothérapie stéréotaxique par rayonnement synchrotron	9
1.4 Interactions des rayons-X sur les atomes d'iode et dans l'eau, dans la gamme d'énergie utilisée pour la RSRS	10
1.4.1 Coefficients d'atténuation et d'absorption	10
1.4.2 Énergie optimale	10
1.4.3 Facteur d'augmentation en dose	13
1.4.4 Énergies étudiées	14
1.4.5 Détails des énergies transmises au milieu	14
2 État de l'art & Problématique	17
2.1 Historique de la radiothérapie combinant éléments lourds & rayons-X . . .	19
2.1.1 D'où l'idée a-t-elle germé?	19
2.1.1.1 Augmentation de dose suivant l'énergie des photons	20
2.1.1.2 Effets mutagènes des agents de contraste?	20
2.1.1.3 Conclusion	21
2.1.2 Potentiel pour la radiothérapie?	21
2.1.2.1 Augmentation de dose sur les lymphocytes	21
2.1.2.2 Distribution de dose	22
2.1.2.3 Concentration en iode dans la tumeur	23
2.1.2.4 Résumé	24
2.1.3 Essais précliniques	24
2.1.4 Vers les premiers essais cliniques	25
2.1.5 Vers le faisceau monochromatique	28
2.2 Résultats obtenus avec un faisceau monochromatique	30
2.2.1 Résumé des études utilisant des agents de contraste	30
2.2.1.1 Les courbes de survie cellulaire	30

2.2.1.2	Étude moléculaire	32
2.2.1.3	Études précliniques <i>in vivo</i>	36
2.2.2	Synthèse des études utilisant des agents pharmacologiques	37
2.2.2.1	Description synthétique des principaux agents pharmacologiques utilisés	37
2.2.2.2	Résultats obtenus avec le cisplatine (CDDP)	39
2.2.2.3	Résultats obtenus avec le carboplatine	41
2.2.2.4	Résultats obtenus avec l' IUDR	42
2.3	Vers un modèle <i>in vitro</i> 3D	44
2.3.1	Différents modèles <i>in vitro</i>	45
2.3.1.1	Les monocultures de cellules individuelles, lignées immortelles	45
2.3.1.2	Les sphéroïdes	46
2.3.1.3	Exemple d'étude utilisant des sphéroïdes	46
2.3.2	Pénétration des drogues	50
2.3.2.1	Micro-environnement tumoral	50
2.3.2.2	Les cellules tumorales	50
2.3.2.3	Propriétés influençant la pénétration des drogues	50
2.3.2.4	Les sphéroïdes pour étudier la pénétration des drogues	51
2.4	Problématique générale & introduction des deux parties de thèse	52

I Optimisation de la radiothérapie stéréotaxique par rayonnement synchrotron : Étude paramétrique **53**

3 État de l'art et problématique **55**

3.1	État de l'art des simulations Monte Carlo de la radiothérapie stéréotaxique par rayonnement synchrotron	57
3.2	Radiosensibilité de l'os	61
3.3	Problématique	63

4 Étude paramétrique et d'optimisation de la radiothérapie stéréotaxique par rayonnement synchrotron **65**

4.1	Matériels & méthodes	67
4.1.1	Paramètres de simulations	67
4.1.2	Géométries	67
4.1.2.1	Le fantôme tête	67
4.1.2.2	La géométrie réaliste	68
4.2	Facteurs d'augmentation de dose dans la tumeur et protection des tissus sains	70
4.2.1	Augmentation de dose en fonction de la qualité du faisceau et de l'élément lourd	70
4.2.2	Augmentation de dose en fonction de la concentration en éléments lourds et de l'énergie des photons	72
4.2.3	Protection des tissus sains	72
4.3	Distribution de dose en fonction de la qualité du faisceau	75
4.4	Spectres photoniques à différentes positions dans le fantôme analytique	76
4.5	Distribution de dose en fonction de la géométrie d'irradiation	77
4.6	Utilisation de marges	79
4.7	Optimisation de la distribution de dose par pondération des faisceaux	80
4.7.1	Homogénéité de la dose en fonction de la position de la tumeur	80

4.7.2	Explication illustrée de la pondération des faisceaux	81
4.7.3	Évaluation de la méthodologie d’optimisation sur le fantôme tête . .	82
4.7.3.1	Cas d’un faisceau polychromatique	83
4.7.3.2	Nombre de faisceaux nécessaire pour une optimisation satisfaisante	84
4.7.3.3	Dose maximale déposée à l’os	87
4.7.4	Évaluation de la méthodologie d’optimisation sur les données réalistes	87
4.7.5	Discussion	90
4.7.6	Conclusion	90

II Étude microdosimétrique, influence de la répartition de l’élément lourd **91**

5 Notions de microdosimétrie et problématique **93**

5.1	Notions de microdosimétrie et modèles radiobiologiques	95
5.1.1	Dommages de l’ADN, effets directs et indirects de l’irradiation . . .	95
5.1.2	Évolution de la microdosimétrie dans ses grandes lignes	97
5.1.3	Modèles biologiques	100
5.1.3.1	Modèle des cibles ou “Target theory”	100
5.1.3.2	Modèle linéaire quadratique (LQ)	101
5.1.4	Transfert d’énergie linéique (TEL)	107
5.1.5	Les compteurs proportionnels micrométriques et nanométriques . .	108
5.1.6	Formalisme de la microdosimétrie proposé par Rossi & Kellerer . .	108
5.1.6.1	Variables microdosimétriques	108
5.1.6.2	Analyse des trajectoires simulées, microdosimétrie structurale	111
5.1.6.3	Variables microdosimétriques et probabilités de distribution	113
5.1.6.4	Valeurs moyennes des distributions microdosimétriques, équation de Kellerer-Chmelevsky	114
5.1.6.5	Application de la microdosimétrie structurale à la radiobiologie (Theory of Dual Radiation Action - TDRA) . . .	114
5.2	Microdosimétrie des radiothérapies utilisant la combinaison irradiation & atomes cibles présents dans la tumeur	115
5.2.1	Boron Neutron Capture Therapy (BNCT)	115
5.2.1.1	Voies d’administration du bore	116
5.2.1.2	Limitation dosimétrique	117
5.2.1.3	Approches microdosimétriques en BNCT	117
5.2.2	Radiothérapie stéréotaxique par rayonnement synchrotron	119
5.2.2.1	Études microdosimétriques des rayons-X (RX)	119
5.2.2.2	Études réalisées de spectres microdosimétriques pour la radiothérapie stéréotaxique par rayonnement synchrotron	123
5.3	Problématique de la partie microdosimétrique	127

6 Étude microdosimétrique prenant en compte la répartition de l’élément lourd **129**

6.1	Rendements en profondeur à l’échelle micrométrique	131
6.2	Validation de calculs micro dosimétriques avec MCNPX, paramètres de simulations	135
6.2.1	Traitement du transport des électrons dans MCNPX	135

6.2.2	Influence de la discrétisation des volumes	137
6.2.3	Nombre de cellules nécessaire	137
6.3	Définition des variables et géométries utilisées.	140
6.3.1	Facteur d'augmentation en énergie (FAE)	140
6.3.2	Géométries	141
6.4	Facteurs d'augmentation en énergie pour une concentration en iode connue, dans l'espace interstitiel des cellules	145
6.4.1	FAE suivant la porosité pour 10 mg/mL d'iode dans l'espace interstitiel	145
6.4.1.1	Géométrie utilisée et paramètres d'irradiation	145
6.4.1.2	Résultats et interprétation de l'étude paramétrique	145
6.4.2	FAE en fonction de la concentration en iode, application au modèle <i>in vitro</i>	148
6.4.2.1	Modèles expérimentaux	148
6.4.2.2	Simulations	164
6.4.2.3	Comparaison des simulations <i>versus</i> résultats <i>in vitro</i>	167
6.5	Facteurs d'augmentation en énergie pour une concentration macroscopique connue	169
6.5.1	FAE suivant la porosité et l'énergie des photons incidents, pour une concentration macroscopique de 10 mg/mL	169
6.5.1.1	Géométrie utilisée et paramètres d'irradiation	169
6.5.1.2	Résultats et interprétation de l'étude paramétrique	170
6.5.2	FAE en fonction de la concentration en iode pour un modèle <i>in vivo</i>	173
6.5.2.1	Géométrie utilisée et paramètres d'irradiation	173
6.5.2.2	Résultats des simulations	174
6.6	Facteurs d'augmentation en énergie au niveau du noyau cellulaire	175
6.6.1	Géométrie utilisée et paramètres d'irradiation	175
6.6.2	Résultats et interprétations des simulations	175
6.7	Conclusion	176

Conclusion générale et perspectives 179

Bibliographie 183

Annexes 199

A Compléments du rapport 201

A.1	Code MCNPX, définition des cellules via les univers	201
A.2	Démonstration de l'équation de Kellerer-Chmelevsky	202
A.3	Comparaison de deux codes de simulation Monte Carlo, MCNPX et PEN-NELOPE	204
A.3.1	Détails des bibliothèques et transport des électrons pour MCNPX et PENELOPE	204
A.3.2	Géométrie utilisée et paramètres d'irradiation	205
A.3.3	Résultats	207
A.4	Détail des courbes de survie cellulaire	209

B Publications et communications	214
B.1 Liste des publications	214
B.2 Liste des communications orales et affichées	214
C Étude microdosimétrie de Caroline Boudou	228
C.1 Validation du code pour la dosimétrie dans des microvolumes	228
C.2 Géométrie et paramètres de calculs	229
C.2.1 Géométrie d’irradiation expérimentale	229
C.2.2 Paramètres de calculs pour les électrons	231
C.3 Énergies déposées dans les différentes configurations	231
C.3.1 Comparaison des énergies moyennes déposées dans un microvolume	231
C.3.2 Influence de la lame de verre	233
C.4 Conclusion et discussion	238
D Coordonnées des membres du jury	239

Liste des symboles

3D	tri-dimensionnel
ADN	Acide DésoxyriboNucléique
BED	Biological Equivalent Dose
BHE	Barrière hémato-encéphalique
BNCT	Boron Neutron Capture Therapy
CDDP	cis-diamminedichloroplatinum (II)
CED	Convection Enhanced Delivery
CTRx	Computerized Tomography Scanner (x pour x-rays)
DEF	Dose Enhancement Factor
DNA	DeoxyriboNucleic Acid
DSB	double-strand breaks
DVH	Dose Volume Histogram
ESRF	European Synchrotron Radiation Facility
FAD	Facteur d'Augmentation de Dose
FAE	Facteur d'Augmentation en Energie
FAEh	FAE pour une répartition en iode homogène
FAEp	FAE pour une microdistribution de l'iode
ICRU	International Commission on Radiation Units and Measurements
INSERM	Institut National de la Santé et de la Recherche Médicale
IUdR	5-iodo-2'-désoxyuridine
LINAC	LINear ACcelerator
LQ	modèle Linéaire quadratique
MCNPX	Monte Carlo N-Particle eXtended
NIST	National Institute of Standards and Technology
NTD	Normalized Totale Dose
PMMA	Polyméthacrylate de méthyle
PtTC	dichloroterpyridine platine

RBE Relative Biological Effectiveness
ROI Region Of Interest
RSRS Radiothérapie Stéréotaxique par Rayonnement Synchrotron
RX rayons-X
SER Sensitization Enhancement Ratio
SQ20B Cellules de carcinome humain du larynx
TEL Transfert d'Énergie Linéique
UH Unités Hounsfield

Introduction

De nos jours, le traitement des gliomes malins¹ reste palliatif. En effet, malgré une recherche active sur le traitement de ces tumeurs, le pronostic reste faible. Le “gold-standard” actuellement utilisé est la chimio-radiothérapie utilisant le temozolomide [Stupp et al., 2007] mais n’a augmenté que modestement la survie des patients. Une revue de Wen et Kesari [Wen and Kesari, 2008] résume les différentes options pour le traitement de ce type de cancer chez l’adulte. Il a été reconnu que la radiothérapie externe permet d’augmenter significativement la durée de vie des patients (même si ce traitement reste palliatif), mais aussi leur qualité de vie. L’obstacle de la radiothérapie est d’obtenir un effet curatif au niveau de la tumeur tout en respectant les tolérances du tissu cérébral ou d’autres organes à risque pouvant être présent dans le volume irradié. Le challenge de la radiothérapie est donc d’obtenir l’effet différentiel entre la tumeur et les tissus sains le plus élevé possible. Avec cette approche, notamment deux techniques innovatrices pour la thérapie cancéreuse ont été proposées : la “Boron Neutron Capture Therapy” (BNCT) et la radiothérapie stéréotaxique par rayonnement synchrotron (RSRS). Le principe de ces deux techniques est d’augmenter localement la dose délivrée en combinant la présence d’un élément spécifique uniquement dans la tumeur et une irradiation adaptée permettant d’obtenir l’effet physique escompté. La BNCT utilise la combinaison “atomes de bore dans la tumeur plus irradiation avec des neutrons”. Pour la RSRS, l’augmentation de dose locale est obtenue en combinant, au niveau de la tumeur, la présence d’un agent de contraste (atomes lourds) et d’une irradiation avec des rayons-X de basse énergie (< 100 keV).

L’origine de cette approche provient de l’observation d’effets délétères obtenus lors d’imagerie par rayons-X utilisant des agents de contraste. C’est l’augmentation de l’absorption des rayons-X de basse énergie sur les atomes lourds qui est utilisée en radiologie pour obtenir du contraste (par exemple pour visualiser la vascularisation) et qui permet d’augmenter la dose localement pour la thérapie. Au niveau d’une tumeur cérébrale vascularisée, la barrière hématoencéphalique est partiellement lésée et laisse passer les macromolécules comme les agents de contraste. C’est cette propriété qui est utilisée pour obtenir une distribution sélective de l’agent de contraste entre la tumeur et les tissus sains du patient. Dans un premier temps, cette technique a été développée à l’aide d’un scanner dédié et a conduit à des essais cliniques prometteurs [Rose et al., 1999]. Elle a par la suite été transférée vers une source de rayons-X monochromatiques intenses (au synchrotron de Grenoble). L’utilisation d’un faisceau monochromatique permet d’améliorer l’effet différentiel entre les tissus tumoraux et sains en sélectionnant l’énergie du rayonnement la plus appropriée. La faisabilité d’utiliser le faisceau synchrotron pour le traitement de tumeur a été montrée [Boudou et al., 2005, Adam et al., 2003] et des essais cliniques sont en préparation.

1. tumeurs gliales, du tissu de soutien du cerveau

Ce travail de thèse a été réalisé au sein de l'équipe INSERM "Rayonnement Synchrotron et Recherche Médicale" pionnière de la RSRS. La problématique de cette thèse est l'optimisation dosimétrique et l'étude microdosimétrique de la RSRS. La partie dosimétrique correspond à l'optimisation des paramètres d'irradiation (énergie des photons, éléments lourds, utilisation de marges...) mais aussi au développement d'une méthodologie visant à homogénéiser la distribution de dose dans la tumeur. Cette étude constituera la première partie de ce manuscrit. L'approche microdosimétrique consiste à évaluer l'influence de la bio-distribution de l'agent de contraste dans le tissu tumoral à l'échelle microscopique (le fait que l'agent de contraste reste dans l'espace interstitiel de celui-ci), sur les valeurs dosimétriques. La seconde partie du manuscrit correspond à l'étude microdosimétrique de la RSRS.

Dans le premier chapitre, nous présenterons la radiothérapie externe en général, nous expliquerons en quoi l'approche de la RSRS est originale, et nous présenterons les données physiques nécessaires à la compréhension des résultats. Le second chapitre est constitué d'une revue de la RSRS, ainsi que de la description d'un modèle poreux 3D *in vitro*, qui permettront de poser la problématique générale de ce travail.

Ensuite les deux parties "dosimétrie" et "microdosimétrie" sont constituées de deux chapitres chacune. Le premier chapitre constitue la revue bibliographique ainsi que la problématique de la partie correspondante. Dans le second chapitre, nous présenterons nos résultats et discussions. La revue bibliographique de la partie I comprend l'état de l'art de la dosimétrie concernant la RSRS, ainsi que des données sur la radiosensibilité de l'os. Dans la partie II, nous proposons, en plus de l'état de l'art et de la problématique, une vue d'ensemble de la microdosimétrie, l'explication d'un formalisme de microdosimétrie et de modèles cellulaires.

Une conclusion générale résume les principaux résultats et évoque les perspectives de ce travail.

Ce travail de thèse a donné lieu à une publication jointe en annexe à ce manuscrit.

Chapitre 1

Notions préliminaires

Sommaire

1.1 Dose et coefficients d'atténuation et d'absorption massiques .	5
1.1.1 La dose	5
1.1.2 Interactions des rayons-X dans la matière	5
1.1.3 Coefficient d'absorption massique	7
1.2 La radiothérapie externe	7
1.2.1 Fractionnement géométrique, effet balistique	8
1.2.2 Fractionnement temporel	8
1.3 Originalités de la radiothérapie stéréotaxique par rayonne-	
ment synchrotron	9
1.4 Interactions des rayons-X sur les atomes d'iode et dans l'eau,	
dans la gamme d'énergie utilisée pour la RSRS	10
1.4.1 Coefficients d'atténuation et d'absorption	10
1.4.2 Énergie optimale	10
1.4.3 Facteur d'augmentation en dose	13
1.4.4 Énergies étudiées	14
1.4.5 Détails des énergies transmises au milieu	14

Lorsqu'un cancer est dépisté et ses caractéristiques définies (type de cancer, grade, état général du patient...), une discussion pluridisciplinaire associant des chirurgiens, oncologues radiothérapeutes, radiologues, etc... est lancée pour conduire au choix thérapeutique. Différentes stratégies peuvent être utilisées : la chirurgie, la radiothérapie externe ou métabolique, la curiethérapie, la chimiothérapie ou encore des combinaisons de ces traitements. La chirurgie consiste à effectuer une résection de la tumeur, la chimiothérapie à traiter avec des produits chimiques. La radiothérapie externe représente toutes les techniques utilisant des radiations ionisantes dont la source est placée à l'extérieur du patient et à une certaine distance de celui-ci ; la radiothérapie métabolique utilise des sources radioactives généralement injectables (non scellées) qui se fixent grâce à leur métabolisme sur les cellules cibles (ex : iode 131 et thyroïde). Enfin, la curiethérapie utilise quant à elle, des sources radioactives scellées (iridium, césium) placées dans ou au voisinage proche des tissus tumoraux ou dans une cavité naturelle (vagin, utérus).

Le sujet de cette thèse porte sur une technique innovante de radiothérapie externe pour le traitement de tumeurs cérébrales. Nous présentons, ci-dessous les grands principes de la radiothérapie externe, pour appréhender les caractéristiques particulières de la radiothérapie stéréotaxique par rayonnement synchrotron (RSRS).

1.1 Dose et coefficients d'atténuation et d'absorption massiques

Nous présentons ici la notion de dose, les interactions rayonnement-matière qui y conduisent ainsi qu'une grandeur dosimétrique fondamentale : le coefficient d'absorption massique.

1.1.1 La dose

Par définition (ICRU 60 [report ICRU 60, 1998]), la dose absorbée est la quantité d'énergie moyenne $\overline{d\epsilon}$ délivrée à un volume élémentaire de masse dm :

$$D = \frac{\overline{d\epsilon}}{dm}$$

Elle s'exprime en Gray (Gy), un gray correspondant à un dépôt d'énergie de 1 joule par kilogramme de matière.

1.1.2 Interactions des rayons-X dans la matière

Les quatre principales interactions des rayons-X dans la matière sont :

- l'effet photoélectrique
- la diffusion cohérente (Rayleigh)
- la diffusion Compton (ou incohérente)
- la création de paires.

L'énergie des photons est déposée dans le milieu en deux étapes. L'énergie des photons est dans un premier temps transférée aux électrons puis au milieu. Suivant le type d'interaction le transfert d'énergie est plus ou moins local. Par exemple pour l'effet photoélectrique toute l'énergie du photon incident (hors énergie nécessaire à l'interaction) est transmise à un électron (transfert local d'énergie) tandis que pour la diffusion Compton cette énergie est partagée entre un électron et un photon diffusé.

1.1.2.1 Effet photoélectrique

L'effet photoélectrique correspond à l'interaction d'un photon avec un électron fortement lié de l'atome cible. L'électron est éjecté avec une énergie cinétique égale à la différence entre l'énergie du photon incident et l'énergie de liaison de l'électron à l'atome cible.

L'atome cible se trouve alors dans un état excité et retourne dans son état fondamental par des processus radiatifs ou non-radiatifs (effet Auger).

Le processus radiatif correspond à l'émission d'un rayonnement de fluorescence dont le spectre de raies est caractéristique du matériau. Le processus non-radiatif ou effet Auger correspond à l'émission multiple d'électrons. La vacance électronique est comblée par un électron moins lié de l'atome. L'excédent d'énergie n'est pas libéré sous forme photonique mais provoque une cascade d'électrons éjectés. L'atome est finalement laissé dans un état de multiples ionisations.

1.1.2.2 Diffusion cohérente

Le photon incident est diffusé sans qu'aucune particule secondaire ne soit mise en mouvement dans le milieu traversé. De même que l'effet photoélectrique, la probabilité de cet effet est faible dans les matériaux légers pour des énergies de l'ordre de 100 keV.

1.1.2.3 Diffusion Compton

Le photon incident est ici diffusé mais une partie de l'énergie est transmise à un électron. Le photon diffusé a une énergie inférieure au photon incident. L'énergie du photon incident est ainsi partagée entre le photon diffusé, l'énergie de liaison de l'électron mis en mouvement et l'énergie cinétique de celui-ci. Cet effet est prédominant à partir de ~ 70 keV pour les matériaux légers, dont l'eau. Il domine également les processus d'interaction des photons d'énergie comprise entre 0.2 et quelques MeV, quel que soit le numéro atomique considéré.

1.1.2.4 Création de paires

La création de paires se produit dans le champ coulombien des noyaux ou des électrons de l'atome cible, lorsque le photon disparaît et qu'une paire électron-positon est créée. Pour créer cette paire dans le champ coulombien d'un noyau, le photon incident doit être d'énergie supérieure ou égale à deux fois la masse des électrons, soit 1.02 MeV. L'énergie restante est transmise aux particules secondaires sous forme d'énergie cinétique.

1.1.2.5 Domaine de prédominance des interactions

La figure 1.1 indique les zones de prédominance des différents types d'interaction photons matière en fonction de l'énergie des photons et du numéro atomique du matériau traversé.

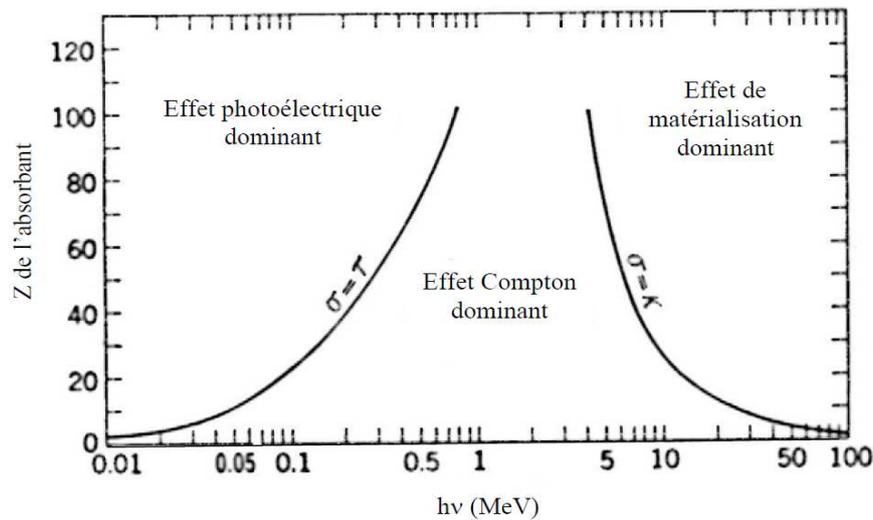


Figure 1.1 – Zones de prédominance des différents types d'interaction photons matière en fonction de l'énergie des photons et du numéro atomique du matériau traversé. Les lignes d'iso-probabilité d'apparition des effets sont tracées.

Pour les photons utilisés en radiothérapie conventionnelle (1-25 MeV), l'interaction prédominante est la diffusion Compton quel que soit le matériau biologique considéré.

Pour la gamme d'énergie utilisée pour la RSRS (< 100 keV), l'interaction prédominante dans l'eau est la diffusion Compton. Pour les matériaux lourds tels que les agents de contraste, l'interaction prédominante est l'effet photoélectrique permettant un transfert d'énergie plus local.

1.1.3 Coefficient d'absorption massique

Pour la radiothérapie, il est important de connaître la fraction d'énergie transférée localement dans le milieu traversé, plutôt que le type d'effet mis en jeu. Pour une interaction, une fraction de l'énergie libérée sera déposée localement *via* les électrons et à distance *via* les photons secondaires. Les coefficients d'atténuation massique renseignent la probabilité d'occurrence d'un type d'interaction particulier. Le coefficient d'absorption massique d'énergie rassemble toutes les interactions et renseigne sur la fraction d'énergie déposée localement.

Il est obtenu de la manière suivante :

- en pondérant le coefficient d'atténuation massique par un facteur représentant la fraction d'énergie transférée par le photon incident à l'électron touché. Ce facteur multiplicatif est égal à un pour l'effet photoélectrique, et inférieur à l'unité pour l'effet Compton ou la création de paire.
- en pondérant ce résultat par l'énergie transmise au milieu sous forme radiative. Cette énergie peut provenir des interactions (par exemple, les photons de fluorescence des interactions photo-électriques) mais aussi des électrons secondaires pour ioniser le milieu (énergie perdue par collision, photons de Bremsstrahlung).

1.2 La radiothérapie externe

La radiothérapie utilise des rayonnements ionisants pour détruire par effet direct ou indirect les cellules tumorales. L'irradiation n'étant pas spécifique aux cellules tumorales, le but est d'obtenir l'effet différentiel maximal entre les tissus sains et les tissus tumoraux.

Deux stratégies sont utilisées :

- le fractionnement géométrique, effet balistique
- le fractionnement temporel.

1.2.1 Fractionnement géométrique, effet balistique

Rechercher un effet balistique consiste à multiplier le nombre de ports d'entrée des rayons-X pour augmenter l'énergie totale délivrée dans la tumeur sans surdoser les tissus sains (cf illustration 1.2). Le volume de tissu sain irradié est donc plus grand mais les doses mieux réparties.



Figure 1.2 – Illustration du fractionnement géométrique pour une métastase cérébrale irradiée avec 4 faisceaux orthogonaux de 80 keV et pour une tumeur contenant 10 mg/mL d'iode. La dose déposée dans le tissu cérébral est répartie dans le volume irradié.

1.2.2 Fractionnement temporel

La toxicité des irradiations est intrinsèquement liée au nombre de lésions de l'ADN.

Plus l'énergie déposée dans les cellules est élevée, plus la probabilité que les lésions soient léthales augmente. On peut tracer les courbes de survie pour un type de cellule et un type d'irradiation donnés. Ces courbes représentent la fraction de la survie des cellules en fonction de la dose de rayonnement et sont généralement de type curviligne. Elles présentent un épaulement au niveau des faibles doses (cf figure 1.3). Avant cet épaulement, les capacités de réparation des cellules ne sont pas saturées. C'est cette propriété que l'on utilise dans le fractionnement car si l'on délivre la dose de rayonnement en plusieurs fractions plutôt qu'une, les réparations après chaque fraction auront le temps d'être effectuées avant la fraction suivante. Les fractions suivantes seront délivrées aux cellules ayant survécues aux fractions précédentes (cf figure 1.4). Les cellules tumorales ont globalement moins de capacités de réparation que les cellules normales. Le fractionnement temporel permet donc de protéger sélectivement les tissus sains par rapport aux tissus tumoraux.

Le fractionnement temporel diminue les effets biologiques des radiations ionisantes, il protège donc les tissus sains et tumoraux mais pas dans les mêmes proportions. C'est cet effet différentiel qui est recherché.

Réoxygénation tumorale Les tumeurs sont généralement constituées de zones hypoxiques liées au développement insuffisant de leur réseau vasculaire. Ces zones sont particulièrement radiorésistantes. Le fractionnement temporel permet aussi la réoxygénation des tumeurs pendant les traitements, ce qui augmente la radiosensibilité des cellules.

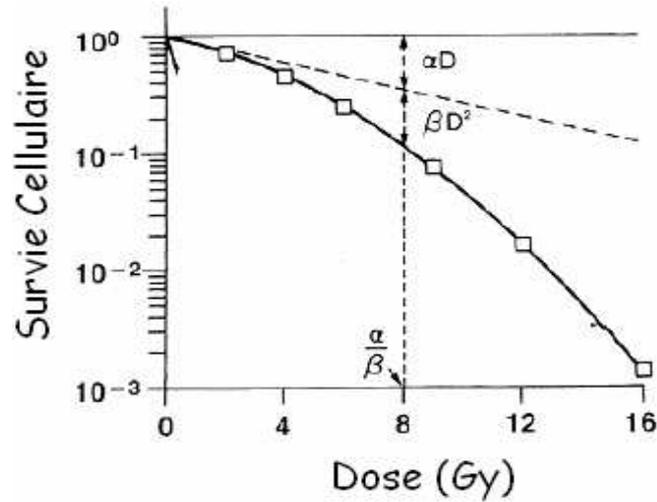


Figure 1.3 – Illustration d’une courbe de survie cellulaire : survie cellulaire en fonction de la dose de rayonnement caractérisée par deux paramètres α et β pour le modèle linéaire quadratique qui sera expliqué en détail ultérieurement.

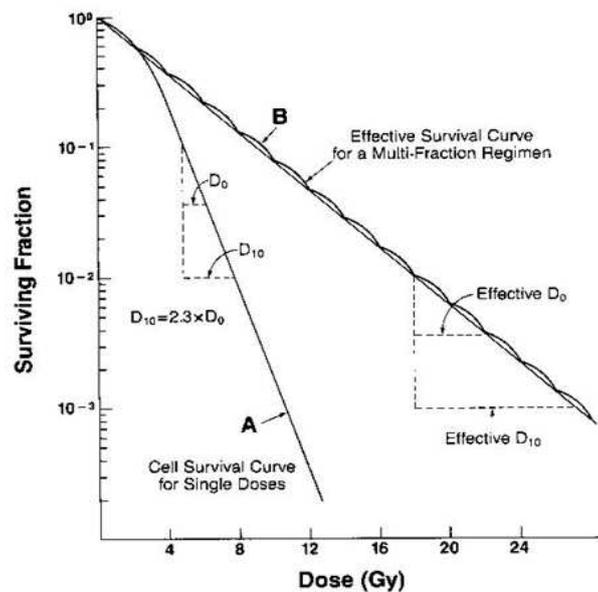


Figure 1.4 – Illustration de l’effet du fractionnement temporel de la dose. Pour une même dose, la survie cellulaire est augmentée.

1.3 Originalités de la radiothérapie stéréotaxique par rayonnement synchrotron

La radiothérapie stéréotaxique par rayonnement synchrotron (RSRS) est une technique de radiothérapie innovante développée pour le traitement de tumeurs cérébrales et plus particulièrement les gliomes.

Les deux grandes originalités de cette technique sont :

- utiliser un rayonnement X monochromatique de basse énergie (typiquement 80 keV comparé à des spectres de plusieurs MV pour la radiothérapie conventionnelle)
- perfuser avant l’irradiation un élément lourd dans la tumeur.

Le principe général (nous reviendrons sur les détails ultérieurement) consiste à obtenir un effet différentiel entre les tissus sains et les tissus tumoraux grâce à la combinaison photons de basses énergies et présence d'éléments lourds au niveau de la tumeur. Cette combinaison permet d'augmenter localement la proportion de l'effet photoélectrique et ainsi la dose déposée localement. Il est alors possible d'obtenir un effet différentiel en terme de section efficace entre le tissu cérébral (assimilable à de l'eau) et le tissu iodé. Ce différentiel n'existe pas à plus haute énergie. Le détail des sections efficaces est présenté dans la section 1.4.

De la même manière que pour la radiothérapie conventionnelle, un fractionnement spatial et temporel peut être utilisé.

1.4 Interactions des rayons-X sur les atomes d'iode et dans l'eau, dans la gamme d'énergie utilisée pour la RSRS

L'iode est un élément lourd communément utilisé en RSRS sous forme de produits de contraste iodé et étudié dans ce travail. Nous précisons, ici, les sections efficaces, énergies moyennes etc. des interactions des rayons-X sur l'eau, l'iode ou milieu iodé qui seront nécessaires à l'analyse des résultats.

1.4.1 Coefficients d'atténuation et d'absorption

Sur les figures 1.5, 1.6, 1.7 et 1.8 sont représentés les coefficients d'atténuation, d'absorption en énergie, le type d'interaction pour de l'eau, l'iode pur et un milieu iodé (eau + 10 mg/mL d'iode).

1.4.2 Énergie optimale

Nous cherchons ici, à montrer de manière théorique quel est l'optimal en terme d'énergie pour obtenir la différence maximale d'absorption entre une tumeur perfusée en iode et les tissus sains. Ceci revient à trouver la différence maximale d'absorption entre l'iode (pur) et l'eau.

La figure 1.9 indique le rapport des coefficients d'atténuation et d'absorption entre l'iode (pur) et l'eau. La variation du rapport des coefficients d'atténuation massiques totale de l'iode et de l'eau présente un maximum juste au-delà du seuil K de l'iode (seuil K de l'iode = 33.169 keV). Ceci n'est pas valable pour tous les éléments lourds par exemple, pour le platine le maximum se situe au delà du seuil L [Corde, 2002, Nowotny, 1998]. L'effet différentiel maximal sera obtenu pour l'augmentation de dose maximale dans la tumeur, c'est-à-dire la zone iodée. Nous cherchons donc à travailler au maximum de différence d'absorption (et non d'atténuation) entre le milieu iodé et l'eau. L'optimum physique pour augmenter le dépôt d'énergie n'est pas situé juste au-delà du seuil K comme le montre le rapport des coefficients d'absorption massiques. Pour l'iode le maximum s'avère être autour de 50 keV.

La figure 1.10 indique le rapport des coefficients d'atténuation et d'absorption massiques entre un milieu aqueux iodé (10 mg/mL) et l'eau. Le rapport maximum des coefficients d'atténuation est obtenu à environ 33.17 keV et vaut environ 1.8. Celui des coefficients d'absorption est obtenu à environ 50 keV et vaut environ 2.5.

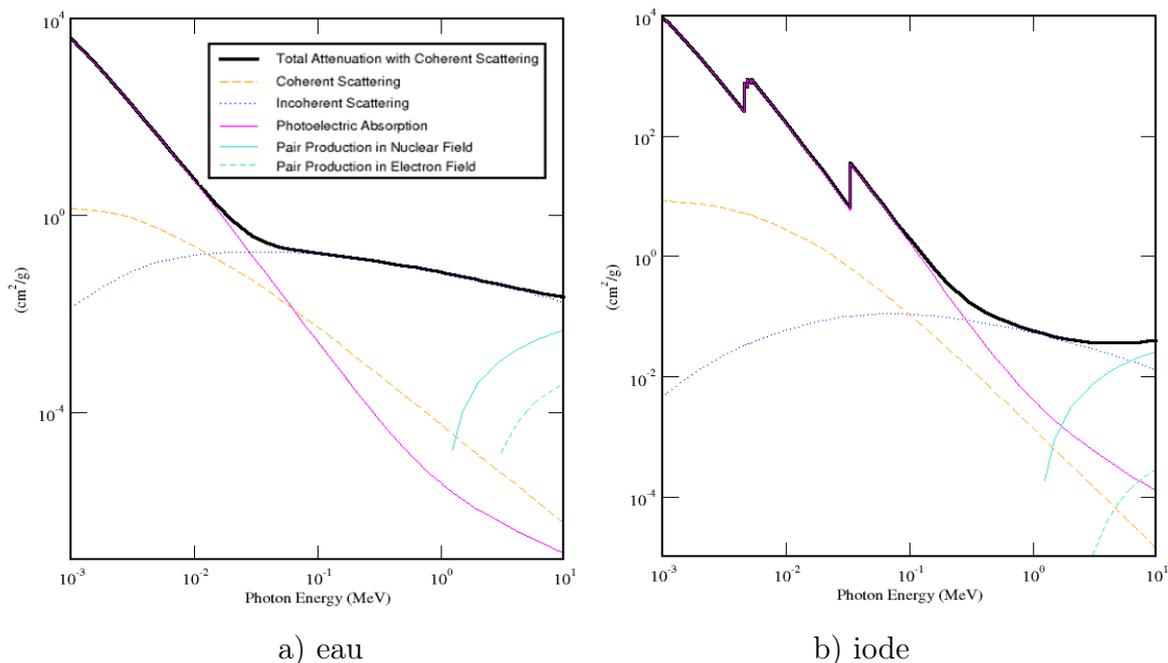


Figure 1.5 – Coefficients d'atténuation ($\frac{\mu}{\rho}$) suivant le type d'interaction pour l'eau et l'iode pur, d'après le NIST [NIST, 2010].

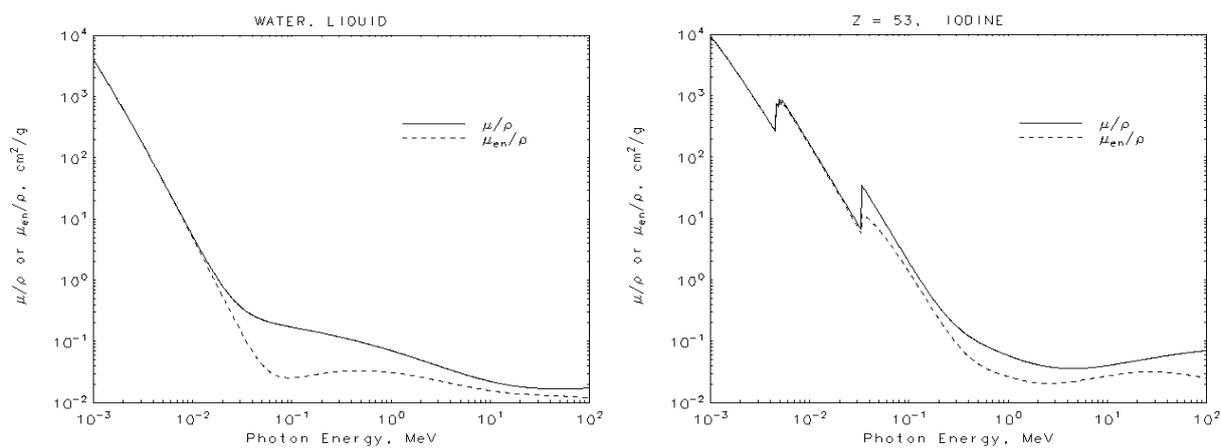


Figure 1.6 – Coefficients d'atténuation massiques ($\frac{\mu}{\rho}$) et d'absorption en énergie ($\frac{\mu_{en}}{\rho}$) de l'eau et l'iode pur, d'après le NIST [NIST, 2010].

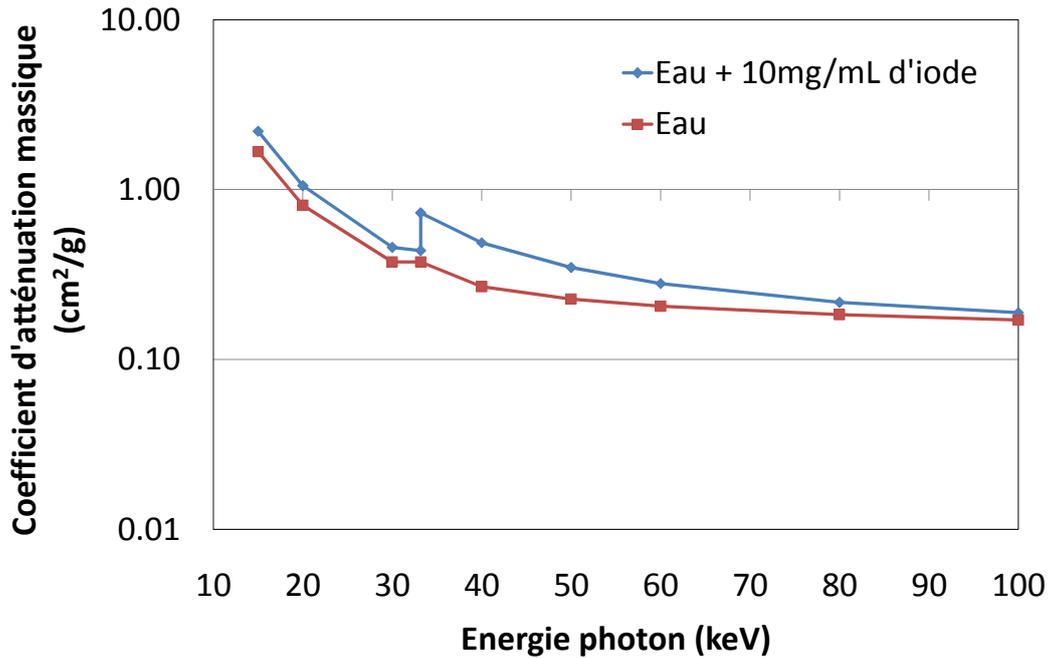


Figure 1.7 – Coefficients d'atténuation massique de l'eau et d'un milieu iodé à 10 mg/mL (d'après le NIST [NIST, 2010]) dans la gamme d'énergie utilisée pour la radiothérapie par rayonnement synchrotron.

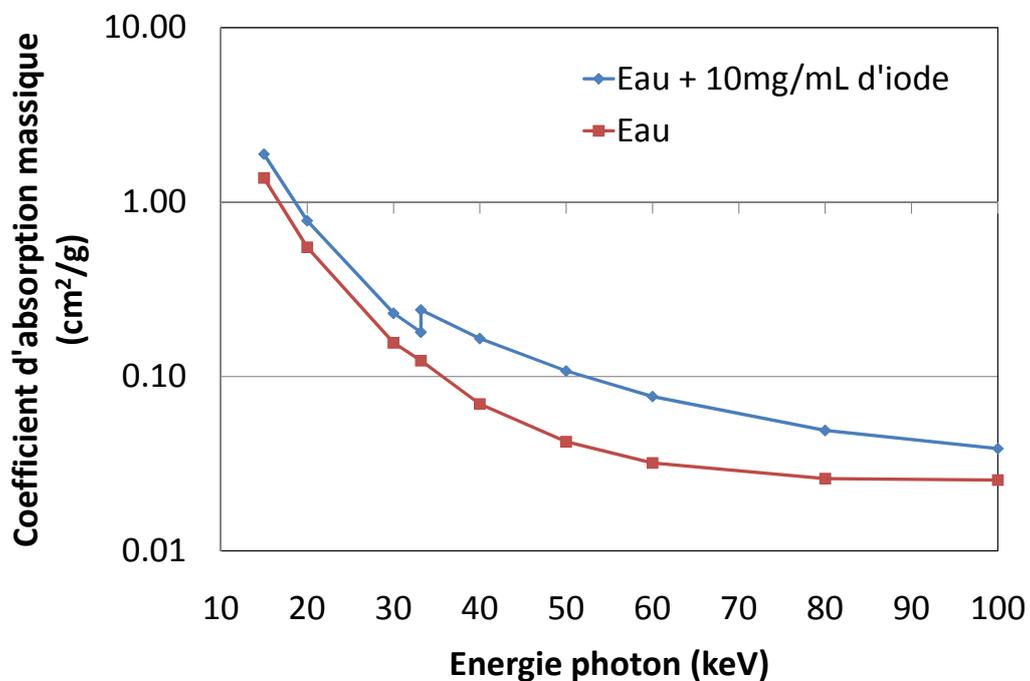


Figure 1.8 – Coefficients d'absorption massique de l'eau et d'un milieu iodé à 10 mg/mL (d'après le NIST [NIST, 2010]) dans la gamme d'énergie utilisée pour la radiothérapie par rayonnement synchrotron.

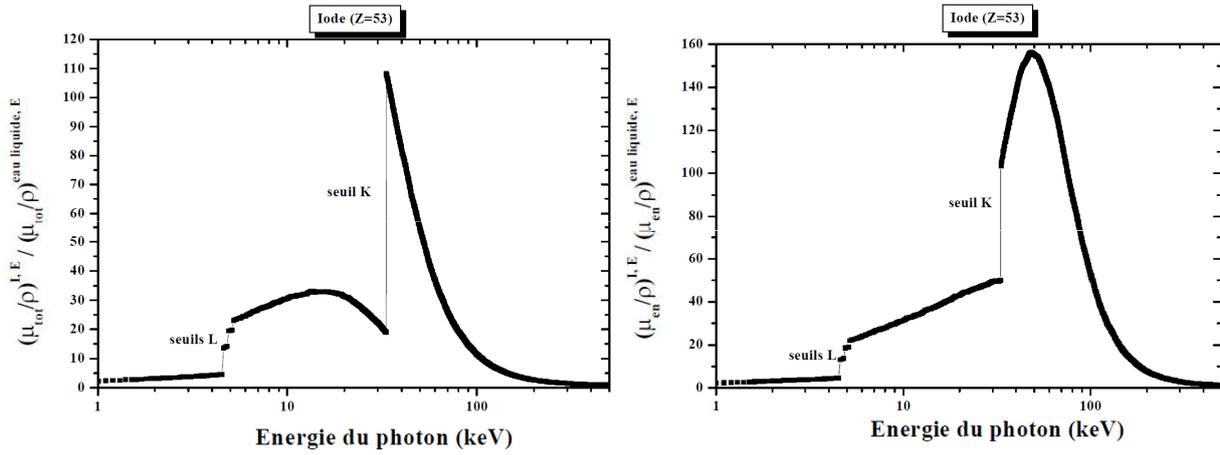


Figure 1.9 – Facteurs d’augmentation de l’atténuation et de dépôt en énergie de l’iode pur par rapport à l’eau [Corde, 2002, Nowotny, 1998].

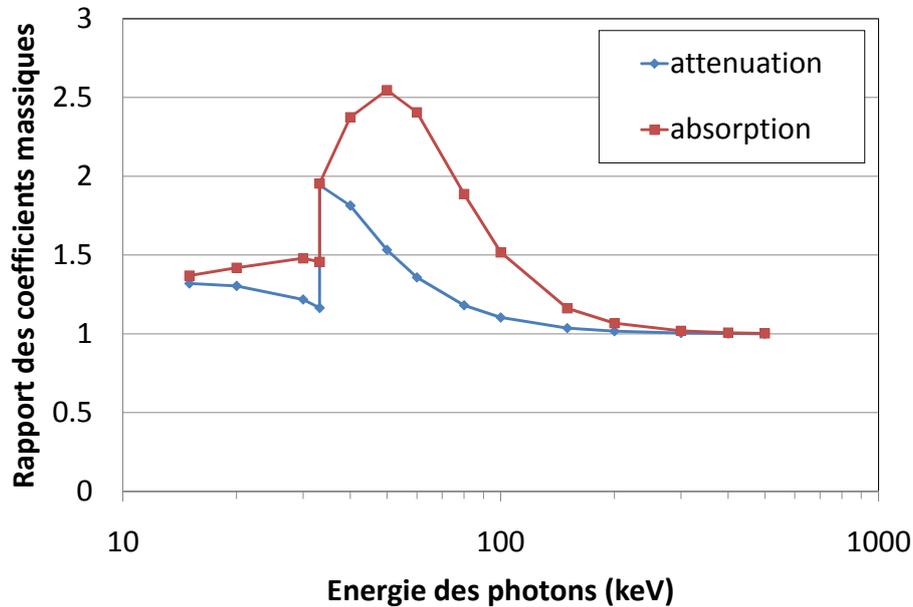


Figure 1.10 – Facteurs d’augmentation de l’atténuation et de l’absorption massiques de l’eau iodée (10 mg/mL) par rapport à l’eau, d’après le NIST [NIST, 2010].

1.4.3 Facteur d’augmentation en dose

Comme expliqué ci-dessus, le but de la RSRS est d’obtenir l’augmentation maximale d’énergie déposée au niveau de la tumeur grâce à la présence d’iode dans celle-ci. Pour caractériser cette augmentation, on utilise le facteur d’augmentation de dose ou “Dose Enhancement Factor” (DEF). Ce facteur se calcule comme suit :

$$DEF = \frac{Dose_{TUMEUR}, [I] > 0}{Dose_{TUMEUR}, [I] = 0}$$

avec $Dose_{TUMEUR}$, la dose déposée dans la tumeur et $[I]$ la concentration en iode présente dans celle-ci.

1.4.4 Énergies étudiées

Nous étudierons, au fil de ce travail, les trois énergies suivantes : 34, 50 et 80 keV. En effet 34 keV et 50 keV sont les optimaux en terme d'augmentation d'atténuation et d'absorption (pour un milieu iodé par rapport à de l'eau). 80 keV représente une énergie permettant un compromis entre une augmentation de l'énergie déposée suffisante dans la tumeur et une atténuation du faisceau dans les tissus sains plus faible, dans le but de protéger les tissus sains.

1.4.5 Détails des énergies transmises au milieu

De manière générale, c'est-à-dire quel que soit l'élément lourd considéré, si l'effet photoélectrique se fait sur la couche K, alors la voie majoritaire de désintégration sera la voie radiative. A partir des couches L, ce sera la voie non-radiative qui sera prédominante. Aux énergies étudiées, c'est-à-dire pour des photons d'énergie supérieure à l'énergie du seuil K de l'iode, les probabilités d'interaction, ainsi que l'énergie des photons de fluorescence et électrons Auger générés, sont décrites dans le tableau 1.1.

S	K					L _I				
$f_{rad}(s)$	88.4%					4.4%				
x	L ₃	L ₂	M ₃	M ₂	N ₃	M ₃	M ₂	N ₃	N ₂	L ₃
$f_{rad}(s,x)$	47 %	25 %	8.5 %	4.4 %	1.8 %	2.1 %	1.3 %	0.45 %	0.27 %	0.03 %
$h\nu_{sx}(keV)$	28.61	28.31	32.29	32.23	33.03	4.29	4.23	5.03	5.01	0.6

(a) Processus radiatifs

S	K					L _I				
$f_{non-rad}(s)$	11.6%					95.6%				
xy	L ₂ L ₃	L ₃ L ₃	L ₁ L ₃	L ₁ L ₂	L ₁ L ₁	M ₄ M ₅	L ₃ N ₅	L ₃ N ₁	L ₃ N ₃	L ₂ N ₁
$f_{non-rad}(s,x,y)$	2.8 %	1.4 %	1.3 %	1.06 %	0.9 %	8.04 %	7.6 %	7.4 %	6.2 %	5.6 %
$e_{sxy}^-(keV)$	23.7	24.05	23.44	23.14	22.84	3.89	0.55	0.416	0.473	0.113

(b) Processus non-radiatifs

Tableau 1.1 – Approche du spectre de photons de fluorescence et d'électrons initialement générés après création d'une lacune en couche K ou L_I sur des atomes d'iode. Distribution des vacances électroniques [Corde, 2002]. s , x et y indiquent les couches électroniques mises en jeu dans les interactions. s correspond à la couche électronique d'où provient le photo-électron, x à la couche électronique d'où provient l'électron qui comble la vacance et y correspond à la couche électronique d'où provient l'électron Auger éjecté.

Le tableau 1.2 apporte des informations sur les énergies transmises en moyenne aux photons et électrons lors des phénomènes de relaxations consécutifs aux interactions photoélectriques sur les différentes couches de l'atome d'iode. Pour une interaction de type photoélectrique sur la couche K, en moyenne, 26.2 keV sont transmis sous forme radiative et 6.8 keV sont transmis aux électrons. Le reste de l'énergie du photon incident est transmis au photo-électron sous forme d'énergie cinétique.

Couche	Énergie de liaison (keV)	Énergies moyennes totales (keV)	
		Photons	Electrons
K	33.169	26.2	6.8
L _I	5.188	0.4	4.6
L _{II}	4.852	0.4	4.3
L _{III}	4.557	0.35	4.05

Tableau 1.2 – Énergies moyennes totales libérées après réorganisation du cortège électronique, d'après [Perkins et al., 1991, Corde, 2002].

Le tableau 1.3 récapitule l'énergie cinétique des photo-électrons pour les 3 énergies étudiées ainsi que le parcours correspondant dans l'eau. Le parcours indiqué est le parcours non-projeté (hypothèse de ralentissement continu).

Énergie des photons incidents	34 keV	50 keV	80 keV
Énergie cinétique des photo-électrons	<1 keV	~16 keV	~46 keV
Parcours dans l'eau des photo-électrons	<i>négligeable</i>	~5.8 μ m	~38 μ m
Parcours des photo-électrons dans de l'eau iodée (contenant 10mg/mL d'iode)	<i>négligeable</i>	~5.8 μ m	~38 μ m

Tableau 1.3 – Énergie des photo-électrons générés lors d'effet photoélectrique sur la couche K d'un atome d'iode et leurs parcours (hypothèse de ralentissement continu), d'après ESTAR database (d'après le NIST [NIST, 2010]).

La figure 1.11 indique le parcours avec hypothèse de ralentissement continu des électrons dans l'eau en fonction de leur énergie.

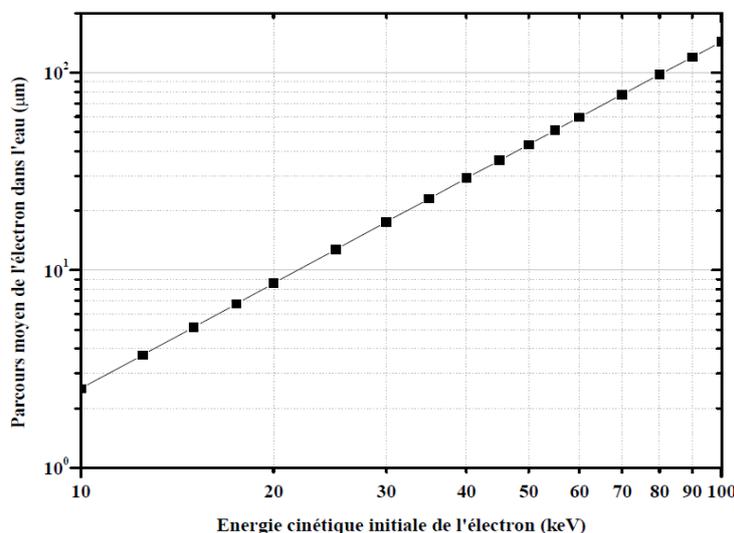


Figure 1.11 – Parcours moyen d'un électron dans l'eau en fonction de son énergie cinétique initiale [Corde, 2002].

Pour résumer, lors d'une interaction photoélectrique (sur la couche K des atomes d'iode), on a en moyenne, 26.2 keV déposés à distance par les photons de fluorescence, 6.8 keV déposés localement et l'énergie cinétique des photo-électrons déposée plus ou moins localement suivant l'énergie des photons incidents.

Chapitre 2

État de l'art & Problématique

Sommaire

2.1	Historique de la radiothérapie combinant éléments lourds & rayons-X	19
2.1.1	D'où l'idée a-t-elle germé?	19
2.1.2	Potentiel pour la radiothérapie?	21
2.1.3	Essais précliniques	24
2.1.4	Vers les premiers essais cliniques	25
2.1.5	Vers le faisceau monochromatique	28
2.2	Résultats obtenus avec un faisceau monochromatique	30
2.2.1	Résumé des études utilisant des agents de contraste	30
2.2.2	Synthèse des études utilisant des agents pharmacologiques	37
2.3	Vers un modèle <i>in vitro</i> 3D	44
2.3.1	Différents modèles <i>in vitro</i>	45
2.3.2	Pénétration des drogues	50
2.4	Problématique générale & introduction des deux parties de thèse	52

Nous présentons dans ce chapitre, l'historique de la radiothérapie combinant des éléments lourds et rayons-X, les résultats obtenus avec un faisceau monochromatique au synchrotron de Grenoble (ESRF), pourquoi nous nous sommes intéressés à un modèle *in vitro* 3D et enfin nous posons la problématique générale de ce travail.

2.1 Historique de la radiothérapie combinant éléments lourds & rayons-X

2.1.1 D'où l'idée a-t-elle germé ?

Des observations et études ont montré que l'utilisation d'agents de contraste iodés pendant un examen radiologique (utilisation de rayons-X de basse énergie) peut induire des effets délétères sur les cellules du sang (lymphocytes¹) [Adams et al., 1977, Cochran et al., 1980, Cochran and Norman, 1982, Norman et al., 1978a].

L'angiographie est une technique d'imagerie médicale dédiée à l'étude des vaisseaux sanguins qui ne sont pas visibles sur des radiographies standards. C'est un examen basé sur l'injection d'un produit de contraste lors d'une imagerie par rayons-X. En 1978, Norman *et al.* ont présenté des résultats sur les aberrations chromosomiques obtenues chez 9 patients après une angiographie cardiaque (dose d'exposition par patient estimée à 10-30 cGy et dose moyenne délivrée aux lymphocytes < 2 cGy, avec un tube-X de 65 et 75 kVp, 1.4 et 1.6 mA) [Norman et al., 1978a]. Des prélèvements sanguins avant, juste après et 24h après l'examen d'imagerie ont permis de quantifier les aberrations chromosomiques des lymphocytes. Pour chaque patient, une augmentation du nombre de micronoyaux (aberrations chromosomiques, cf figure 2.1) a été observée juste après l'examen.

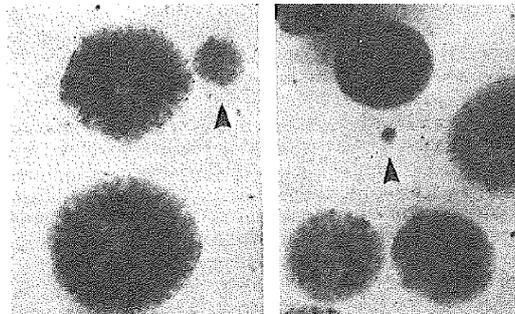


Figure 2.1 – Micronoyaux observés au microscope (pointés), d'après Norman *et al.* [Norman et al., 1978a].

Il a été démontré que deux mécanismes contribuent aux observations des aberrations chromosomiques :

- une augmentation de la dose absorbée par les cellules exposées en présence d'agent de contraste iodé (indépendamment de la composition chimique de l'agent de contraste utilisé)
- l'agent de contraste produit intrinsèquement des lésions même sans irradiation (les dérivés monoamino et diamino d'acide triiodobenzoïque peuvent générer des lésions des lymphocytes pour des concentrations plus faibles qu'avec les diatrizoates).

1. lymphocytes : type de leucocytes, de globules blancs.

Les données n'avaient cependant pas permis d'estimer quelle fraction des dommages est due à la toxicité intrinsèque du produit de contraste, à la dose en rayons-X ou encore à une synergie entre les deux.

2.1.1.1 Augmentation de dose suivant l'énergie des photons

Callisen *et al.* [Callisen et al., 1979] ont étudié, en 1979, la dose absorbée durant un examen de cathétérisation cardiaque pédiatrique. La dose déposée dans le sang des patients a été triplée à cause de la présence d'agent de contraste iodé (Renografin). Ils ont aussi montré que cette augmentation de dose est plus importante avec des rayons-X qu'avec des rayons- γ (source de Cobalt) [Norman et al., 1978a]. Sur ce point, Dawson *et al.* [Dawson et al., 1988] ont montré l'inexistence d'augmentation de dose entre un agent de contraste iodé et des rayons- γ (source de Cobalt) avec l'étude *in vitro* de survie de cellules de "Chinese Hamster Ovary" (CHO). Ceci a confirmé le fait que l'augmentation de dose est due à la plus grande section efficace des photons-X (effet photoélectrique) sur les atomes d'iode aux basses énergies. Mello *et al.* ont montré en 1983 [Mello et al., 1983], que le nombre de micronoyaux n'est pas augmenté si les lymphocytes sont irradiés avec un faisceau de cobalt en présence d'agent de contraste. Sachant que pour des rayons- γ , il n'y a pas d'augmentation de dose en présence d'éléments lourds, on peut donc aussi en conclure que l'exposition brève des cellules à un produit iodé ne provoque pas de lésions cellulaires.

2.1.1.2 Effets mutagènes des agents de contraste ?

Norman *et al.*, en 2001, ont proposé l'analyse de 10 études provenant de 6 publications, qui utilisent la fréquence d'augmentation du nombre de micronoyaux comme indicateur des dommages cytogénétiques des lymphocytes circulants, causés par une angiographie cardiaque ou une urographie [Norman et al., 2001]. L'analyse a montré que, quel que soit l'agent de contraste utilisé (forte osmolarité ionique, faible osmolarité ionique, agent de contraste non-ionique), l'augmentation du nombre de micronoyaux n'est pas significativement différente. Ceci suggère que la composition chimique n'influence pas le nombre d'aberrations chromosomiques produites, ce qui contredit les observations *in vitro* faites au préalable (Norman *et al.* [Norman et al., 1978a], par exemple).

L'étude des micronoyaux de lymphocytes a montré que certains agents de contraste (dérivés monoamino et diamino d'acide triiodobenzoïque et diatrizoates) présentent des propriétés intrinsèques mutagènes, qui peuvent être augmentées par exposition aux rayons-X [Cochran and Norman, 1982, Norman et al., 1978a]. Vis-à-vis de l'interprétation de ces micronoyaux, en 1982, Nelson *et al.* [Nelson et al., 1982] ont souligné qu'il n'est pas évident que les micronoyaux soient spécifiques de la mutagenèse des cellules ; par contre, il semble que les micronoyaux soient spécifiques des lésions de la cellule. En 1994, Hangar *et al.* [Hagmar et al., 1994] ont montré que l'augmentation du nombre de micronoyaux dans les lymphocytes est un indicateur d'augmentation du risque de cancer radioinduit. Cependant, ceci demeure controversé comme, par exemple, par Grudzenski *et al.* [Grudzenski et al., 2009].

En 2009, Deimling *et al.* [Deimling et al., 2009] ont étudié l'action génotoxique intrinsèque des agents de contraste iodés *in vivo* (souris), dans le cadre de la protection des patients exposés à ces agents pendant les procédures de radiodiagnostic. Une corrélation significative entre les doses d'agent de contraste (Urografina 292) administrées par voie intra-péritonéale et la fréquence de micronoyaux a été trouvée et montre l'effet génotoxique potentiel de ces agents de contraste. Une augmentation significative des micronoyaux pour des doses très élevées (14.3 et 20 ml/kg du poids du corps pour des

souris mâles et femelles respectivement) a été obtenue. Il n'a cependant pas été trouvé d'augmentation du nombre de micronoyaux dans les lymphocytes de souris pour des doses d'agent de contraste de 5.7 et 8.6 mL/kg (doses utilisées en clinique). Des études complémentaires ont été menées en utilisant une solution purifiée de l'agent de contraste. Aucune augmentation significative de micronoyaux n'a été obtenue en augmentant la dose d'agent de contraste purifié. Ceci a permis de montrer que ce sont les impuretés présentes dans les agents de contraste, tels que les arylamines, qui sont mutagènes. Il est donc possible de diminuer les dommages génétiques produits lors d'injections d'agent de contraste iodé en diminuant la quantité de ces amines.

Les résultats obtenus *in vitro* par Mello *et al.* [Mello et al., 1983], montrant des effets cytogénétiques² des agents iodés, ont été obtenus pour des temps d'exposition longs et des concentrations élevées. Ces conditions provoquent des divisions cellulaires instables et des aberrations chromosomiques sous forme de micronoyaux, mais elles ne correspondent pas aux conditions d'examen radiologiques.

2.1.1.3 Conclusion

Ces travaux ont ainsi montré que la combinaison "rayons-X et agent de contraste" permet d'augmenter les effets délétères sur les cellules grâce à un dépôt de dose plus important, qui résulte de l'augmentation des sections efficaces photoélectriques. Ceci nécessite donc d'utiliser un faisceau d'énergie suffisamment basse car l'effet n'est pas obtenu pour une irradiation avec un faisceau de Cobalt (1.25 MeV) où l'interaction principale des photons est l'effet Compton (même sur des atomes d'iode, cf section 1.3.2). Un second point important est que l'effet est obtenu quel que soit l'agent de contraste iodé utilisé et que celui-ci n'a pas d'action cytogénétique sur les cellules exposées brièvement au produit (effet qui n'est observé que pour des temps d'incubation de l'ordre de 24h).

2.1.2 Potentiel pour la radiothérapie ?

Les observations décrites dans le paragraphe précédent, ont montré que la dose déposée dans les cellules augmente à proximité d'agent de contraste iodé lorsqu'elles sont irradiées avec un faisceau de rayons-X d'énergie effective inférieure à 120 keV. L'idée est d'utiliser ces effets (délétères d'un point de vue radiologique) au profit d'une technique de radiothérapie utilisant un effet différentiel entre les cellules irradiées à proximité de l'agent de contraste (les cellules tumorales) et les tissus sains. Ceci suggère de perfuser la tumeur dans un premier temps avec un agent de contraste, puis de l'irradier. Mello *et al.* proposent en 1983 d'explorer le potentiel de l'augmentation de dose déposée dans les tissus perfusés en iode lors de l'irradiation pour la radiothérapie [Mello et al., 1983]. Leurs résultats et observations sont présentés dans les paragraphes suivants.

2.1.2.1 Augmentation de dose sur les lymphocytes

Des lymphocytes humains ont été irradiés en suspension avec différents faisceaux (énergie effective de 20 à 1250 keV) et des concentrations en iode variées (Renografin, de 0 à 8%). Les résultats sont présentés figure 2.2. Pour le faisceau de Cobalt, il n'y a pas d'augmentation significative de dose, même avec 8% de Renografin. Ceci confirme de nouveau que l'augmentation de l'effet biologique des radiations en présence d'agent de contraste est provoquée par l'augmentation du flux de photoélectrons. Pour les énergies effectives inférieures à 120 keV, et pour 5% de Renografin, une augmentation de dose entre 2-3 est

2. cytogénétiques : phénomènes génétiques au niveau de la cellule, c'est-à-dire au niveau des chromosomes : anomalies chromosomiques (de nombre et de structure), recombinaison de chromosomes, etc...

obtenue. Ceci démontre l'effet de la concentration d'iode et de la qualité du rayonnement sur le facteur d'augmentation en dose sur des lymphocytes. Ceci montre également que l'on peut obtenir une augmentation des aberrations chromosomiques de 2 à 4 pour des faisceaux de rayons-X d'énergie effective inférieure à 120 keV. Ceci permettrait d'obtenir, dans un but thérapeutique, un effet différentiel significatif entre les cellules en présence d'iode et les cellules non-exposées, c'est-à-dire respectivement entre les cellules tumorales et saines.

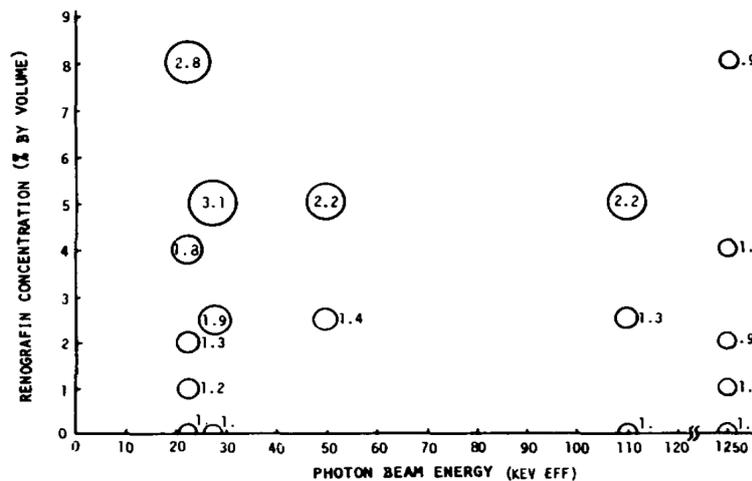


Figure 2.2 – Augmentation de dose obtenue sur des lymphocytes irradiés en présence de Renografin, d'après Mello *et al.* [Mello et al., 1983].

2.1.2.2 Distribution de dose

Le rendement en profondeur d'un faisceau de rayons-X d'énergie effective 60 keV dans une tête humaine avec une tumeur contenant de l'iode (4 mg/mL) (cf figure 2.3) a été étudié et superposé à celui obtenu avec un faisceau de Cobalt (1.25 MeV sans iode dans la tumeur). Pour une même dose déposée dans la tumeur, ils montrent que les tissus sains en amont et en aval de la tumeur reçoivent moins de dose avec la combinaison rayons-X de basses énergies et iode dans la tumeur qu'en irradiant avec le faisceau de Cobalt. Seule la dose à l'os pourrait être problématique quant à l'utilisation de cette technique pour traiter les tumeurs cérébrales. Une solution pour diminuer cette dose est de répartir géométriquement la dose par arc-thérapie.

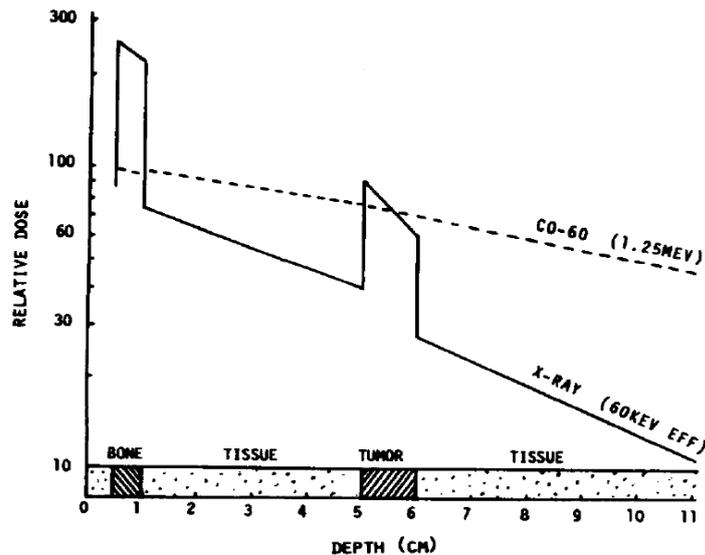


Figure 2.3 – Rendement en profondeur dans un cerveau obtenu pour une irradiation à 60 keV contenant une tumeur perfusée avec 4 mg/mL et comparaison avec le rendement en profondeur obtenu à 1.25 MeV, d'après Mello *et al.* [Mello et al., 1983].

2.1.2.3 Concentration en iode dans la tumeur

Pour la thérapie, l'iode doit rester à une concentration suffisante pendant tout le temps de l'irradiation. Norman *et al.* [Norman et al., 1978b] ont comparé différents modes d'administration de l'agent de contraste et les ont reliés au degré d'augmentation de contraste sur les images ainsi qu'à la concentration d'agent de contraste dans le sang. Pour les tumeurs cérébrales, la barrière hématoencéphalique³ (BHE) est partiellement lésée, ce qui permet à l'agent de contraste, injecté par voie intra-veineuse, de s'extravaser sélectivement dans la tumeur et non dans les tissus sains. Il a été montré que l'agent de contraste peut rester dans la tumeur pendant plus d'une heure. Les concentrations en iode ont été estimées à partir des images scanner pour deux patients. Les concentrations obtenues sont 2.7 et 4 mg/mL. Ils ont cependant aussi observé que beaucoup de tumeurs ne contiennent pas suffisamment d'agent de contraste ; c'est pourquoi ils ont proposé de perfuser les tumeurs par voie directe. L'injection d'iode par voie directe dans des carcinomes chez le lapin a montré la faisabilité de la démarche. L'iode reste pendant 30-40 min dans la tumeur après l'injection et 24h après, il n'y a plus de trace d'iode sur les images scanner. Les auteurs soulignent cependant la nécessité d'étudier la cinétique de l'agent de contraste dans des tumeurs spontanées qui présentent notamment une vascularisation différente.

Mesa *et al.* [Mesa et al., 1999] ont souligné l'importance de pouvoir augmenter la concentration en iode pour diminuer la dose déposée dans l'os et ont proposé différentes solutions :

- administrer de l'agent de contraste par voie artérielle
- modifier la perméabilité des vaisseaux
- injecter par voie directe le produit iodé.

L'utilisation de différents plans non-coplanaires pour l'irradiation permet également de diminuer la dose à l'os.

3. barrière hématoencéphalique : barrière anatomique qui filtre et contrôle le passage des substances sanguines et les empêche de passer librement du sang au liquide extra-cellulaire de la substance grise du système nerveux central.

2.1.2.4 Résumé

Dans l'étude de Mello *et al.* [Mello et al., 1983], la majorité des problématiques de la radiothérapie par photoactivation d'élément lourd a été soulevée :

- dépendance de l'augmentation de dose vis-à-vis de la concentration en iode et qualité du faisceau utilisé,
- forte absorption de l'os,
- la concentration en iode dans la tumeur pendant le traitement doit être suffisante en quantité et ce pendant toute la durée de l'irradiation. De ce fait, l'injection d'agent de contraste par voie directe est proposée.

Un avantage certain souligné par les auteurs de cette technique par rapport aux autres radiothérapies innovatrices telles que la "Boron Neutron Capture Therapy"⁴ est que l'on a accès facilement à la distribution en iode grâce au scanner à rayons-X. On peut ainsi évaluer rétrospectivement la dose délivrée à la tumeur de façon précise.

2.1.3 Essais précliniques

Mello *et al.* 1983 [Mello et al., 1983] : Un premier test *in vivo* sur des souris porteuses de tumeurs sous-cutanées (cellules Ehrlich ascites) a montré que :

- l'injection seule d'agent de contraste n'a pas d'effet évident sur les tumeurs
- l'irradiation seule induit une régression partielle dans 10% des cas et aucune dans 90% des cas (dose de 20 Gy délivrés par fractions de 2 Gy, 5 jours par semaine)
- la combinaison d'injection de 0.4 mL d'hypaque délivrée dans 3 ou 4 sites au niveau de la base de la tumeur et d'une irradiation avec un tube à rayons-X de 100 kVp (2.5 mm Al) a permis 80% de régression totale des tumeurs et 15% de régression partielle (une tumeur n'a pas répondu positivement au traitement).

La combinaison irradiation, avec un spectre de radiodiagnostique, et agent de contraste apparaît comme une technique de radiothérapie efficace.

Iwamoto *et al.* 1987 [Iwamoto et al., 1987], 1990 [Iwamoto et al., 1990] et 1993 [Iwamoto et al., 1993] : En 1987, Iwamoto *et al.* ont étudié *in vivo* un modèle de tumeurs cérébrales (carcinome VX-2) implantées dans le cerveau de lapins. Une augmentation de la survie moyenne de 51% a été observée entre une irradiation seule et une irradiation combinée avec l'injection préalable d'agent de contraste iodé. Le détail des survies moyennes obtenues est 3, 25.5 et 38.5 jours pour respectivement les témoins, l'irradiation seule et l'irradiation combinée avec l'injection de l'agent de contraste. L'irradiation a été faite avec un tube à rayons-X de 120 kVp et une dose de 15 Gy délivrée en 3 fractions. L'augmentation de dose dans la tumeur est obtenue pour une injection intraveineuse d'iode de 1.5 g I/kg (Conray 300 ou Conray 325). Un autre résultat important de cette étude est que l'infusion répétée d'iode n'affecte pas les reins des lapins.

En 1990, Iwamoto *et al.* ont proposé le CTRx, un scanner avec un collimateur modifié pour pouvoir l'utiliser pour la thérapie. L'idée est de convertir un scanner GE 9800 pour pouvoir l'utiliser avec deux fonctions : le diagnostic et la thérapie. La modification consiste à monter un collimateur ajustable au collimateur existant ce qui permet de modifier le faisceau divergent ("fan beam") en faisceau fin ("pencil beam") pour la thérapie. Le scanner peut toujours être utilisé en mode diagnostique. L'intérêt d'utiliser un scanner pour la radiothérapie, plutôt qu'un tube à rayons-X conventionnel, est de pouvoir se

4. Thérapie par capture neutronique du bore : technique de radiothérapie qui utilise un faisceau de neutrons en combinaison avec des atomes de bore préalablement injectés au patient (les atomes de bore se concentrent dans la tumeur). La BNCT utilise des interactions des neutrons avec les atomes de bore-10 qui produisent des particules alphas et des noyaux de Lithium.

centrer sur la tumeur et l'irradier en mode tomographique (arcthérapie dynamique sur 360°). Ceci permet de concentrer la dose géométriquement au niveau de la tumeur et de mieux protéger les autres organes (cerveau et crâne). De plus, le scanner utilisé peut être désaxé de plus ou moins 20° (cf figure 2.4) ce qui réduit d'autant plus la dose déposée dans l'os (organe le plus exposé par cette technique comme expliqué précédemment).

En 1993, Iwamoto *et al.* ont publié les résultats préliminaires du traitement de tumeurs spontanées chez le chien avec le CTRx. Ils ont montré les améliorations cliniques obtenues pour la plupart des chiens avec une diminution significative du volume tumoral. Les auteurs n'ont pas observé d'effets secondaires dus au traitement.

Norman *et al.* 1997 [Norman et al., 1997] : En 1997, Norman *et al.* ont publié la description finale des résultats et méthodes utilisées pour estimer la dose absorbée par des tumeurs spontanées de chiens. Cette étude a montré que l'utilisation du CTRx pour la radiothérapie est efficace et non dangereuse, mais aussi qu'elle permet une augmentation de la survie moyenne comparable à celle que l'on obtient pour les mêmes doses équivalentes (après avoir pris en compte l'augmentation de dose liée à l'iode) délivrées avec un faisceau de Cobalt ou un accélérateur linéaire conventionnel. Cette technique permet ainsi, pour un même contrôle tumoral, de mieux préserver les tissus sains. Les rapports d'autopsie ont montré qu'il n'y a pas eu d'effets délétères en dehors du volume tumoral pour le cerveau, mais aussi au niveau de la peau et de l'os du crâne. Cette étude a permis à l'équipe de Norman d'obtenir l'autorisation de l' "Institutional Review Board" (Comité d'éthique indépendant) pour transférer la technique vers des essais cliniques.

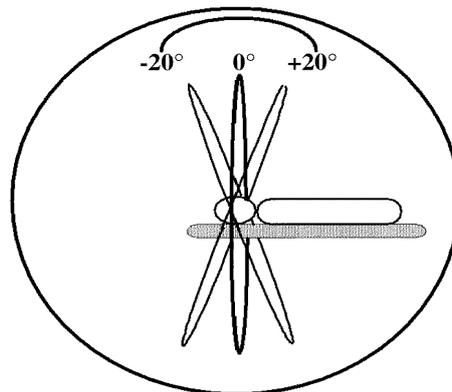


Figure 2.4 – Vue de profil du CTRx montrant les 3 axes non-coplanaires désaxés de 20° , d'après Mesa *et al.* [Mesa et al., 1999].

2.1.4 Vers les premiers essais cliniques

Solberg *et al.* [Solberg et al., 1992] publient en 1992 les résultats de simulations Monte Carlo sur l'utilisation du CTRx combiné avec la présence de 5 mg/mL d'iode dans la tumeur chez un patient. Ils ont aussi évalué les facteurs d'augmentation de dose (DEF) obtenus pour différentes tailles de champ et pour 5 mg/mL de gadolinium dans la tumeur. Les simulations ont été réalisées avec le code MCNP4. Les simulations ont été comparées à des résultats expérimentaux obtenus au préalable [Dawson et al., 1987, Mello et al., 1983, Norman et al., 1991]. Brièvement, le protocole expérimental consiste à centrifuger des échantillons de sang, puis à suspendre les cellules ainsi récupérées, dans du milieu de culture contenant la concentration en iode voulue. Les cellules ont été irradiées en suspension. Le DEF est estimé en effectuant le rapport des fréquences d'apparition de micronoyaux entre les cellules irradiées en présence d'iode ou non. Une bonne corrélation

kV	80	100	120	140	200	250
Calculated	1.98	—	1.90	1.83	1.64	—
Measured	—	1.9 ^a	1.7 ^a	1.7 ^b	1.4 ^c	1.2 ^d

^a Mello *et al* (1983).

^b Norman *et al* (1991).

^c Matsudaira *et al* (1980).

^d Dawson *et al* (1987).

Figure 2.5 – DEF calculés et mesurés pour différentes tensions de générateurs à rayons-X, d'après Solberg *et al.* [Solberg *et al.*, 1992].

entre simulations et mesures expérimentales (cf tableau 2.5) a été obtenue. Les différences observées peuvent provenir de l'inhomogénéité en concentration d'iode pour les résultats expérimentaux ou du fait que l'iode reste à l'extérieur des cellules, ce qui n'est pas pris en compte dans les simulations. La relation entre le DEF expérimental et la concentration en iode est linéaire et dépend de la qualité du faisceau utilisé (cf figure 2.6). Ils ont conclu, que pour les agents de contrastes disponibles, un DEF de 1.83 peut être obtenu pour une irradiation au CTRx utilisant un tube de 140 kVp et une concentration en iode de 5 mg/mL, comme observée sur les tumeurs cérébrales du chien. Ce DEF peut être réhaussé en augmentant la concentration en iode ou encore en diminuant l'énergie effective du faisceau utilisé (en baissant la tension du tube) et en augmentant la filtration de manière à limiter les trop faibles énergies (peu pénétrantes), contribuant uniquement à la dose à l'os. Solberg *et al.* suggèrent un faisceau monochromatique comme solution pour obtenir un DEF élevé.

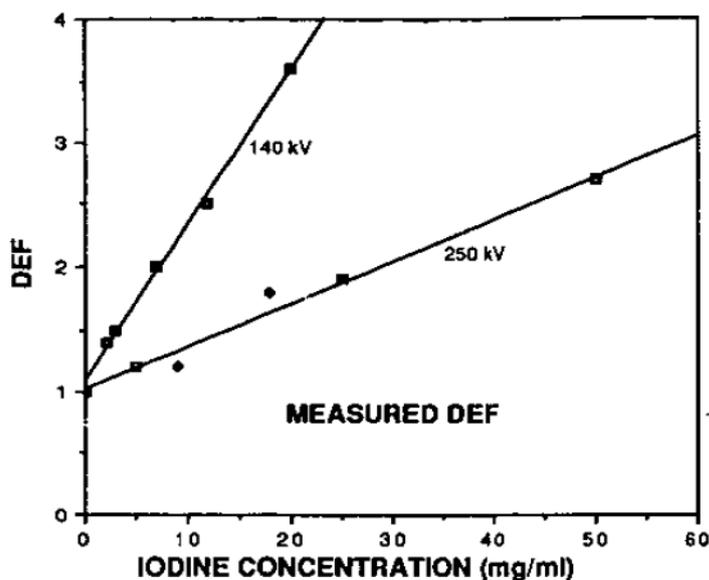


Figure 2.6 – DEF mesurés pour différentes concentrations en iode. Les cellules ont été exposées au rayonnement X du CTRx ou d'un tube fixe de 250 kVp, d'après Solberg *et al.* [Solberg *et al.*, 1992].

Mesa *et al.* ont évalué en 1999 [Mesa *et al.*, 1999] les distributions de dose pour un patient dans la configuration utilisée lors d'essais cliniques. La tumeur placée à l'isocentre

est irradiée avec le tube de 140 kVp du CTRx, après perfusion avec un agent de contraste iodé injecté par voie intraveineuse. Le traitement est délivré en faisant tourner le tube sur trois arcs non-coplanaires (désaxés de 20° , cf figure 2.4). Les résultats obtenus en faisant varier la concentration en iode sont présentés figure 2.7. Les isodoses se resserrent autour de la tumeur pour les concentrations croissantes en iode dans la tumeur. La distribution de dose est comparée à la distribution obtenue pour une irradiation avec un accélérateur linéaire de 10 MV (cf figure 2.8). On peut obtenir, avec une concentration en iode suffisante, un meilleur gradient de dose autour de la tumeur avec l'irradiation au CTRx, qu'avec une irradiation 10 MV. Ceci représente l'avantage de la technique.

L'uniformité de la distribution en dose dans la tumeur a aussi été étudiée. L'uniformité de la dose dépend de la concentration en iode (à partir de 15 mg/mL, atténuation et durcissement important du faisceau dans la tumeur) et de la position de la tumeur dans la tête du patient (plus la tumeur sera centrée, meilleure sera l'homogénéité en dose). Le durcissement du faisceau correspond à l'évolution du spectre polychromatique vers les hautes énergies due au fait que les photons de basses énergies ont une probabilité plus importante d'interagir dans le milieu. L'énergie moyenne du faisceau augmente avec l'épaisseur de tissu traversée. L'utilisation d'un faisceau monochromatique permettrait d'éviter ce problème de durcissement du faisceau conduisant à une distribution de dose inhomogène. Mesa *et al.* ont suggéré aussi une autre possibilité qui consisterait à utiliser des faisceaux pondérés pour obtenir une distribution de dose plus uniforme.

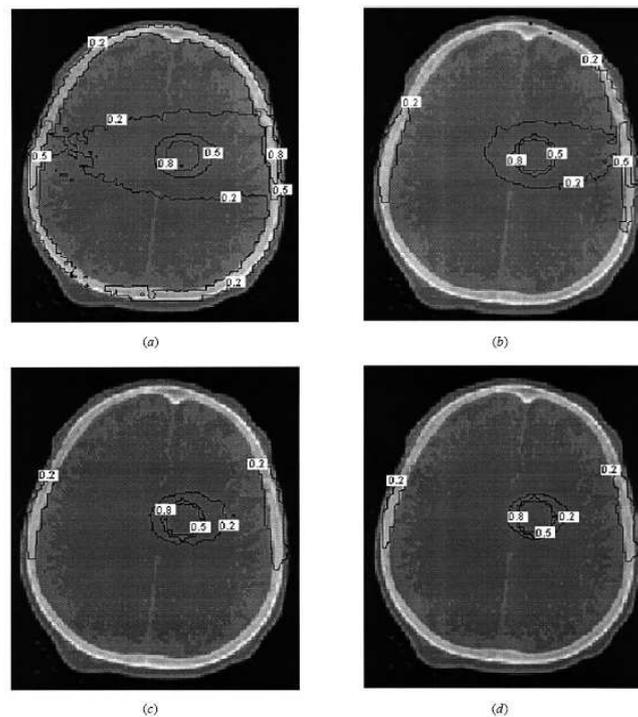


Figure 2.7 – Distribution de dose calculée pour un traitement CTRx pour (a) 0 mg/mL, (b) 5 mg/mL, (c) 10 mg/mL et (d) 15 mg/mL, d'après Mesa *et al.* [Mesa et al., 1999].

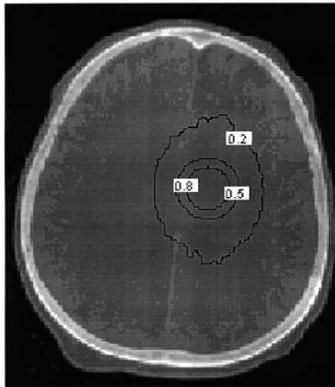


Figure 2.8 – Distribution de dose pour un traitement stéréotaxique avec un faisceau de 10 MV, d'après Mesa *et al.* [Mesa et al., 1999].

Un essai clinique de phase I a été conduit chez 8 patients portant des métastases multiples au cerveau. Cet essai a montré l'absence de tout effet secondaire (toxicité de l'iode, nécrose de la peau, cerveau ou os) dû au traitement combinant l'injection d'agent de contraste iodé et l'irradiation avec le CTRx [Rose et al., 1999]. L'irradiation avec le CTRx a été utilisé en complément (boost) de l'irradiation cérébrale totale (40 Gy délivrée avec un 6 MV). 25 Gy supplémentaires ont été délivrés par fractions de 5 Gy à une seule métastase choisie par le médecin. Pour déposer 5 Gy avec le CTRx, 50-60 rotations du tube sont nécessaires. A cause des problèmes de refroidissement du tube à rayons-X, la durée de l'irradiation est d'environ 45 min (3×15 min, plus les temps de refroidissement). Les résultats de cette étude ont été encourageants : une métastase sur les 8 a complètement disparu, une autre a quasiment disparu (avec un volume représentant 3% du volume initial à la fin du traitement) alors que le volume de la tumeur de contrôle a été multiplié par 5.5 ou est resté constant.

2.1.5 Vers le faisceau monochromatique

Les études de Solberg *et al.* [Solberg et al., 1992], et Mesa *et al.* [Mesa et al., 1999] présentées ci-dessus, ont suggérées qu'utiliser un faisceau monochromatique pour la thérapie permettrait :

- une optimisation du facteur d'augmentation en dose
- une meilleure pénétration du faisceau
- supprimer le problème du durcissement du faisceau dans la tumeur et ainsi avoir une distribution de dose plus uniforme dans la tumeur, ne dépendant plus que de la position de la tumeur
- une diminution de la dose à l'os.

En 2005, Boudou *et al.* [Boudou et al., 2005] ont étudié les profils de dose obtenus par simulation Monte Carlo (MCNPX) pour un patient dont la tumeur cérébrale contient 10 mg/mL d'iode. Une irradiation avec le spectre polychromatique du GE 9800CT utilisé pour le traitement CTRx et une irradiation monochromatique à l'énergie effective de ce dernier, soit 64 keV, sont comparées. Les résultats obtenus sont présentés figure 2.9. Ces profils de dose confirment l'avantage d'utiliser un faisceau monochromatique au niveau de la dose reçue par l'os qui est diminuée de 9 à 32% par rapport à l'irradiation polychromatique.

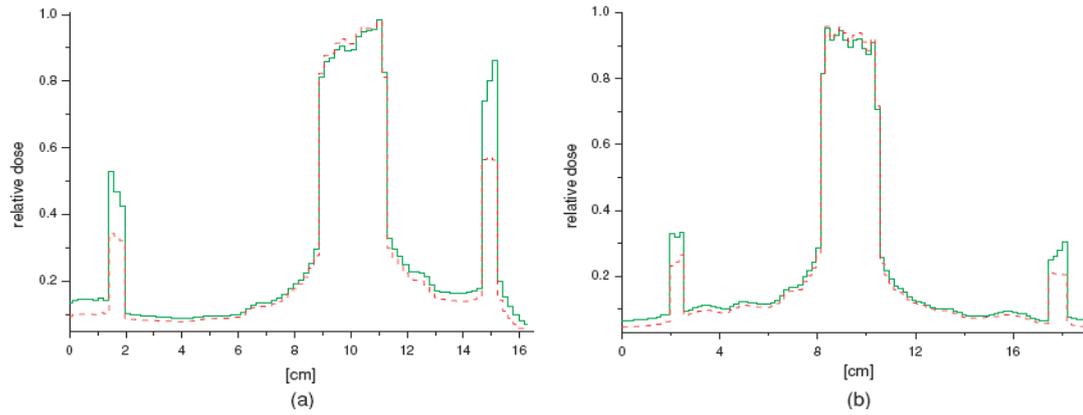


Figure 2.9 – Profils de dose obtenus à travers une tête dans les plans (a) gauche-droite et (b) antéro-postérieur, pour une irradiation polychromatique (spectre du GE 9800CT, du traitement CTRx) en vert et monochromatique à l'énergie effective de ce spectre, soit 64 keV et 10 mg/mL d'iode dans la tumeur en rouge, d'après Boudou *et al.* [Boudou et al., 2005].

2.2 Résultats obtenus avec un faisceau monochromatique

Deux approches radicalement différentes sont étudiées au synchrotron de Grenoble (ESRF) pour développer cette technique de radiothérapie innovante :

- l'utilisation d'un agent de contraste iodé pour augmenter la dose déposée dans la tumeur. Cette approche correspond au prolongement des études menées par l'équipe de Norman.
- l'utilisation d'agents pharmacologiques entrant dans les cellules qui permettrait d'avoir les atomes lourds en contact avec l'ADN. La principale difficulté de cette approche est d'obtenir un compromis entre une concentration suffisante pour avoir un effet physique (augmentation de dose due aux particules secondaires consécutives à l'effet photoélectriques) mais pas trop élevée pour limiter la toxicité intrinsèque du produit.

Les résultats obtenus pour ces deux approches sont synthétisés dans cette section.

2.2.1 Résumé des études utilisant des agents de contraste

Nous présentons ici les études qui ont été réalisées sur l'utilisation d'agents de contraste pour la radiothérapie stéréotaxique par rayonnement synchrotron. Il s'agit donc de molécules iodées qui restent dans le milieu extracellulaire de la tumeur, à distance du noyau (la principale cible cellulaire) et correspond à la démarche initialement proposée par l'équipe de Norman *et al.* Nous présentons donc les études *in vitro* (survie cellulaire), moléculaires (cassures double brins de l'ADN produites lors du traitement) ainsi que les études précliniques réalisées au synchrotron de Grenoble.

2.2.1.1 Les courbes de survie cellulaire

Stéphanie Corde a étudié, dans le cadre de sa thèse (2002), la survie cellulaire de la lignée SQ20B⁵ irradiées à 50 keV en l'absence ou présence de différentes concentrations en iode (Ioméron). Les cellules étaient irradiées en suspension dans le milieu cellulaire iodé (cf figure 2.10) [Corde et al., 2004]. Un facteur d'augmentation biologique, $SER_{10\%}$ ("Sensitization Enhancement Ratio"), a été défini : c'est le ratio entre la dose de rayonnement nécessaire (prescrite dans l'eau) pour obtenir 10% de survie cellulaire en absence ou en présence d'éléments lourds. Le $SER_{10\%}$ augmente avec la concentration en iode mais pas linéairement comme prédit par la théorie. Le facteur d'augmentation en dose (DEF) théorique est le rapport entre la dose déposée dans la tumeur lorsqu'elle contient de l'iode et la dose déposée lorsqu'il n'y a pas d'iode. On l'obtient théoriquement en faisant le rapport simple des coefficients d'absorption en énergie dans des milieux homogènes. La différence entre $SER_{10\%}$ et facteurs physiques peut s'expliquer par les raisons suivantes :

- les DEF théoriques sont surestimés car ils ne tiennent pas compte des modifications de fluence photonique ni du fait que l'iode reste à l'extérieur des cellules
- l'auto-absorption des photoélectrons par le milieu iodé lui-même
- l'effet de réduction de tout facteur d'augmentation en radiobiologie cellulaire avec l'augmentation de l'effet (si l'effet ne peut être obtenu qu'une fois par cellule, comme par exemple la mort cellulaire, l'effet diminue lorsque celui-ci va avoir une probabilité d'apparaître plusieurs fois dans la même cellule)
- les valeurs du facteur d'augmentation biologique sont dépendantes de la définition de celui-ci (ici défini pour 10% de survie).

5. Cellules de carcinome humain du larynx.

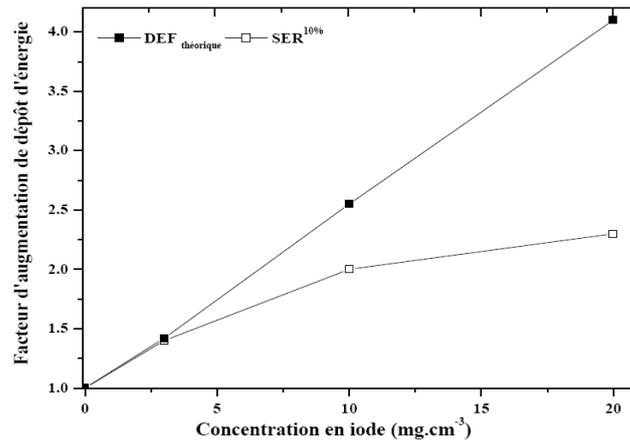


Figure 2.10 – Comparaison des gains de dépôt d'énergie théoriques et estimés par le calcul du SER_{10%} pour l'irradiation des cellules SQ20B à 50 keV en présence de 3, 10 ou 20 mg.cm⁻³ d'iode (Ioméron) pour l'isoeffet 10% de survie, d'après la thèse de S. Corde.

S. Corde a aussi estimé le SER_{10%} représentatif de l'augmentation de dose due à 10 mg/mL d'iode présent dans le milieu de culture lors de l'irradiation, pour différentes énergies monochromatiques. Les résultats obtenus concordent globalement avec le facteur d'augmentation théorique mais sont systématiquement inférieurs (cf figure 2.11). Le facteur maximal est obtenu pour une irradiation à 50 keV comme prédit par les calculs et il est minimum au dessous du seuil K de l'iode. L'explication pour les différences entre DEFs théoriques et SER_{10%} expérimentaux peuvent provenir des mêmes éléments proposés précédemment.

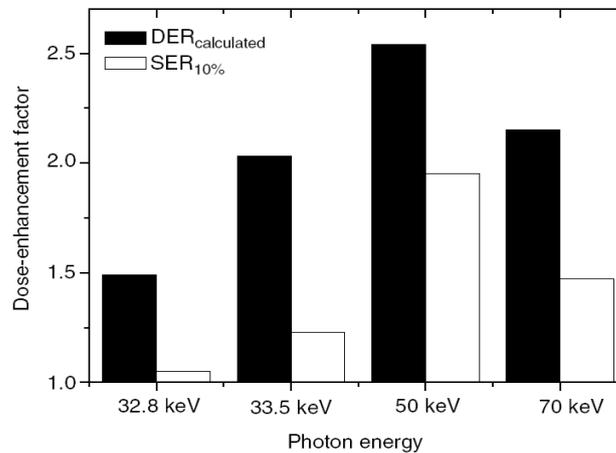


Figure 2.11 – Comparaison des gains de dépôts d'énergie théoriques et estimés par le calcul de SER_{10%} pour l'irradiation des cellules SQ20B à plusieurs énergies en présence de 10 mg/mL d'iode (Ioméron), d'après Corde *et al.* [Corde et al., 2004].

Aurélien Joubert (thèse soutenue en 2004) a travaillé, quant à elle, sur la survie cellulaire de la lignée BAEC (cellules endothéliales d'aorte bovine) en présence d'un agent de contraste iodé, l'Ioméprol. Les résultats obtenus sur des cellules en suspension pour une irradiation monochromatique à 50 keV, en fonction de la concentration en iode (Ioméprol), sont similaires à ceux obtenus par S. Corde. En effet, les facteurs d'augmentation d'effets biologiques augmentent avec la concentration en iode et sont inférieurs aux facteurs d'augmentation théoriques (cf figure 2.12-a). Les courbes de survie obtenues pour

une irradiation des cellules à haute énergie (accélérateur linéaire de 6 MV) sont présentées figure 2.12-b. Une augmentation de dose de 1.06 est obtenue expérimentalement. Théoriquement, le facteur d'augmentation de dose pour un faisceau de 6 MV est de 1.01 [Robar, 2006].

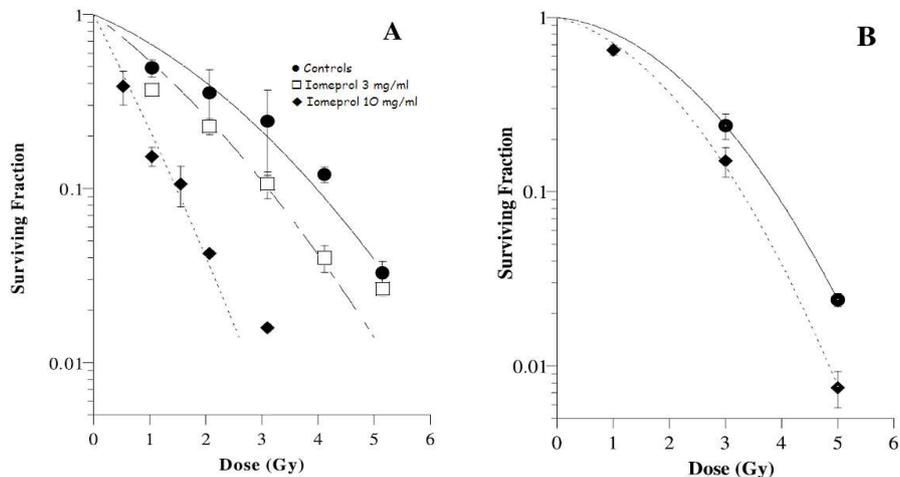


Figure 2.12 – Courbes de survie cellulaire obtenues avec la lignée BAEC, pour différentes concentrations en iode (Ioméprol) et pour une irradiation (A) au synchrotron à 50 keV et (B) avec un faisceau polychromatique de 6 MV, d'après Joubert *et al.* [Joubert *et al.*, 2005].

En conclusion, pour la survie cellulaire des deux lignées différentes irradiées en suspension en présence d'un agent de contraste iodé (Ioméron ou Ioméprol), les facteurs d'augmentation obtenus expérimentalement concordent entre eux ainsi qu'avec les facteurs d'augmentation théoriques. L'énergie optimale, en terme de facteur d'augmentation en dose, est 50 keV.

2.2.1.2 Étude moléculaire

Il a été montré par Rothkamm *et al.* [Rothkamm and Löbrich, 2003] que le nombre de foci formées par phosphorylation de l'histone H2AX (γ H2AX) est proportionnel au nombre de cassures double-brins et que la cinétique de la disparition des foci peut refléter le taux de réparation de l'ADN. Joubert *et al.* [Joubert *et al.*, 2005] ont proposé d'étudier le nombre de cassures double-brins ainsi que la cinétique de la réparation de ces cassures avec le marquage d'immunofluorescence " γ H2AX". Pour cette étude, les cellules ont été irradiées adhérentes sur une lame de verre, un côté étant exposé au milieu cellulaire iodé. Il a été trouvé que le Ioméprol seul ne produit pas de foci γ H2AX, même après une incubation de 24h. La présence de 10 mg/mL d'iode pendant l'irradiation de cellules avec un faisceau monochromatique de 50 keV ne change pas significativement le nombre de foci (cf figure 2.13). Les auteurs en ont conclu que l'exposition aux rayons-X de cellules en présence d'iode ne modifiait pas le nombre de cassures double-brins. D'autres résultats, non détaillés ici, indiquent que la radiolyse de la molécule de Ioméprol inhibe la réparation des cassures double-brins en diminuant l'activité de kinases (DNA-PK kinase). Une première interprétation des résultats a donc été que l'exposition aux rayons-X de cellules en milieu iodé n'augmente pas le nombre de cassures double-brins mais inhibe la réparation de ces cassures.

Caroline Boudou a évalué pendant sa thèse⁶ (2006), par des simulations Monte Carlo de microdosimétrie (avec le code MCNPX), la modification du facteur d'augmentation en dose selon la nature du substrat sur lequel sont irradiées les cellules (cf figure 2.14). La dose déposée dans des demi-sphères, représentant les cellules fixées sur un substrat d'un côté et en contact avec le milieu de culture contenant ou non 10 mg/mL d'iode de l'autre côté, a été évaluée par simulations. Le matériel du substrat peut être modifié : verre, PMMA⁷, milieu de culture (cf figure 2.14). L'irradiation a été simulée avec un faisceau de photons parallèle de 50 keV. Il a été démontré que dans les conditions expérimentales utilisées pour l'irradiation des cellules BAEC⁸ pour la détermination du nombre de cassures double-brins générées en présence ou non de 10 mg/mL d'iode, proposé par A. Joubert *et al.* [Joubert et al., 2005], le facteur d'augmentation en dose est de l'ordre de 1.2 lorsque le support est en verre contre 2.2 si on considère du milieu iodée des deux côtés. Un grand nombre de photoélectrons sont générés dans le substrat en verre (200 μm d'épaisseur) et masquent l'augmentation du nombre de photoélectrons générée sur les atomes d'iode. Ceci expliquerait pourquoi, le nombre de cassures double-brins observé lorsque les cellules ont été irradiées en présence ou non d'iode n'a pas été augmenté de manière significative. L'explication ne proviendrait donc pas d'une inhibition des réparations des cassures double-brins.

Ces résultats de simulations concordent avec ceux obtenus par Kegel *et al.* qui ont montré que le nombre de cassures double-brins induits par l'irradiation avec un faisceau de 120 kVp est multiplié par un facteur 2 si les cellules sont irradiées sur un support en verre (cf figure 2.15) [Kegel et al., 2007]. La cinétique des cassures a aussi été étudiée et il a été montré qu'il n'y a pas de différence de taux de réparation des lésions suivant la qualité du faisceau utilisé (rayons-X ou rayons- γ). Par contre l'augmentation du nombre de cassures double-brins générées par le verre dépend de la qualité du faisceau (augmentation à 25 kVp inférieure qu'à 120 kVp).

Grudzenski S *et al.* [Grudzenski et al., 2009] ont étudié récemment l'effet d'agents de contraste iodés sur l'induction et la réparation des cassures double-brins de l'ADN, sur des lymphocytes après un examen radiologique (tomographie par rayons-X 120kVp, cellules irradiées en suspension). Les résultats obtenus montrent que la présence d'agent de contraste augmente *in vivo* le nombre de cassures double-brins d'environ 30%. Ces résultats ont été confirmés *in vitro*. Les résultats présentés figure 2.16 montrent que :

- le nombre de cassures double-brins est augmenté si les cellules sont irradiées en présence d'agent de contraste
- l'agent de contraste n'influe pas sur la vitesse de réparation des cassures
- le fait d'ajouter l'agent de contraste après l'irradiation n'augmente pas le nombre de cassures double-brins, même si l'agent de contraste est pré-irradié.

Le troisième point a été étudié suite à l'hypothèse proposée par Joubert *et al.* qui suggérait que l'irradiation des agents de contraste produit des composants cytotoxiques qui affectent le niveau de dommages dû à l'irradiation [Joubert et al., 2005]. Cette hypothèse a donc ici été réfutée.

Les trois études précédentes (C. Boudou, Kegel *et al.* et Grudzenski *et al.*) s'accordent pour montrer l'influence du verre sur la dose reçue par les cellules qui peut conduire à des interprétations erronées. Le nombre de cassures double-brins est augmenté lorsque les cellules sont irradiées en présence d'agent de contraste iodé. Cette augmentation de dose

6. Ces résultats n'ayant pas été décrits dans son rapport de thèse ni publiés, ils sont présentés en annexe.

7. Le PMMA est un thermoplastique transparent dont le monomère est le méthacrylate de méthyle (MAM). Ce polymère est plus connu sous son premier nom commercial de Plexiglas.

8. cellules endothéliales d'aorte bovine.

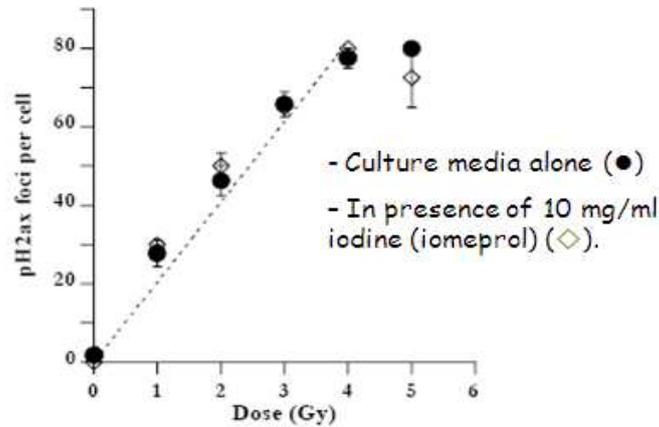


Figure 2.13 – Production de cassures double-brins par immunofluorescence γ H2AX, d'après Joubert *et al.* [Joubert et al., 2005]. Nombre de foci par cellules représentatif du nombre de cassures double-brins pour des cellules (cellules adhérentes à un substrat en verre) irradiées en présence ou non de 10 mg/mL d'iode (Ioméprol) et à 50 keV.

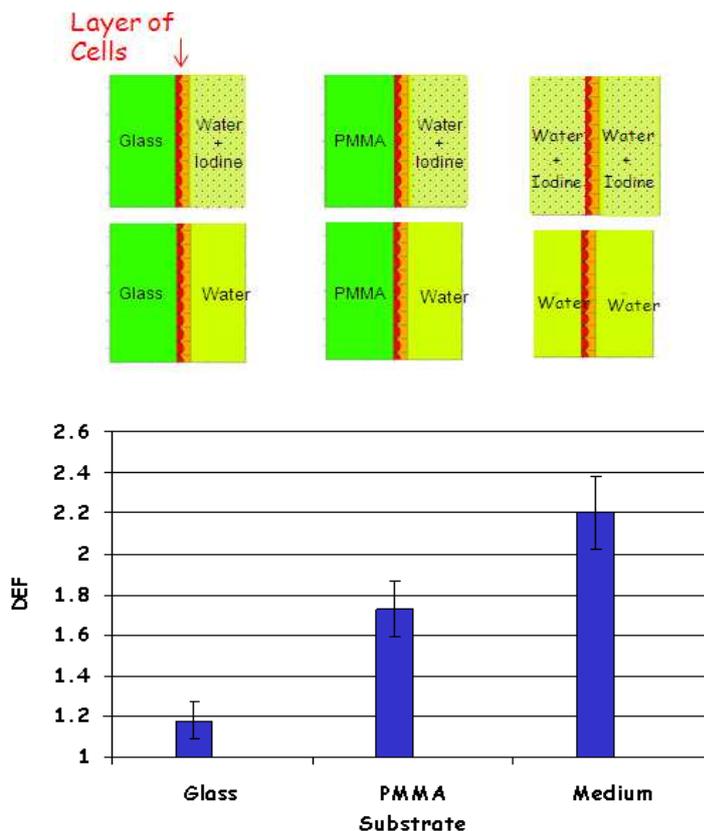


Figure 2.14 – Géométries utilisées pour les simulations du facteur d'augmentation en dose suivant le substrat sur lequel sont fixées les cellules (verre, PMMA ou milieu, c'est à dire cellules en suspension) et les résultats obtenus, d'après la thèse de C. Boudou (détails en annexe).

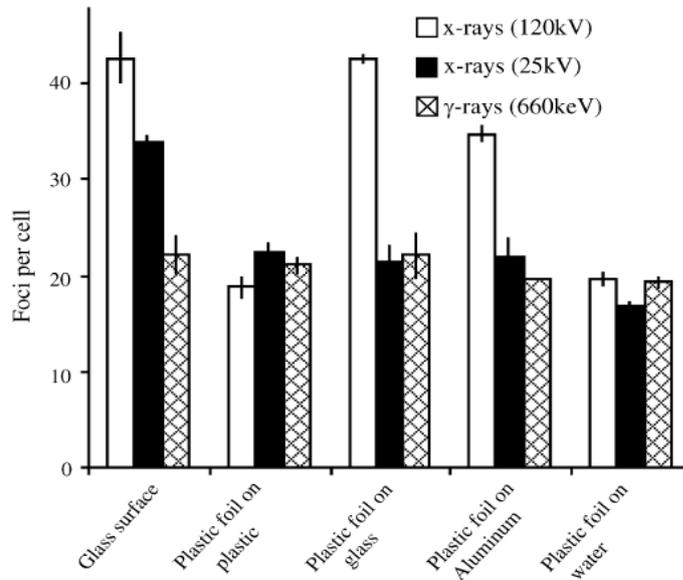


Figure 2.15 – Le nombre de foci $\gamma H2AX$ par cellule (correspond au nombre de cassures double-brins) obtenu 15 min après l'irradiation et pour 1 Gy sur des fibroblastes humains (cellules MRC-5). Les cellules ont été cultivées sur un support soit en verre, soit en plastique. Pour les cellules cultivées sur un support en plastique, les photons traversent d'abord un premier support qui peut être en plastique, en verre, en aluminium (2 mm) ou être une couche de 5 mm d'eau puis le support sur lequel les cellules ont été cultivées et enfin les cellules. Pour les cellules cultivées sur un support en verre, les photons traversent d'abord ce support puis les cellules, d'après Kegel *et al.* [Kegel *et al.*, 2007].

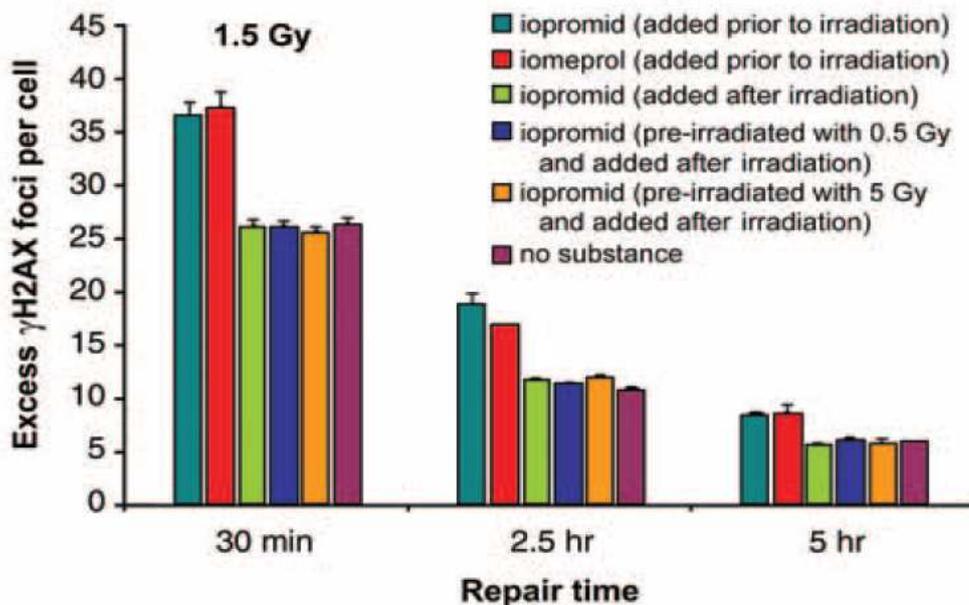


Figure 2.16 – Effet de l'agent de contraste iodé sur le nombre de foci $\gamma H2AX$ après irradiation (rayons-X) *in vitro* de cellules. Différents agents de contraste iodés sont testés. Ils sont ajoutés avant ou après irradiation ; et dans ce dernier cas sont pré-irradiés ou non. D'après Grudzinski *et al.* [Grudzinski *et al.*, 2009]

n'était toutefois pas mesurable dans les conditions expérimentales de Joubert *et al.*, les photo-électrons générés dans le verre masquant l'augmentation de dose due à l'iode.

2.2.1.3 Études précliniques *in vivo*

Les travaux de Adam *et al.* [Adam et al., 2003] menés au synchrotron de Grenoble ont montré que les rats porteurs de gliomes (F98) ayant reçu un agent de contraste (Ioméron), injecté par voie intra-veineuse, pendant la radiothérapie ont survécu significativement plus longtemps que ceux qui ont reçu la radiothérapie seule ($p = 0.025$). Les survies moyennes obtenues pour les témoins, les irradiés seuls et les irradiés en présence d'iode (injection continue) sont 12.5, 15 et 18 jours respectivement pour une irradiation à 50 keV et une prescription de 10 Gy en une seule fraction. L'augmentation de l'espérance de vie est de 20% et 44% pour les rats irradiés sans et avec de l'iode. Un **effet significatif** (moins de morts à court terme) est donc obtenu, mais il apparaît nécessaire de pouvoir augmenter la concentration en iode dans la tumeur pendant le traitement pour améliorer d'autant plus la survie des rats.

D'autres modes d'administrations ont été testés [Adam et al., 2005] : injection de l'agent de contraste (6 mL pendant 12 min) par voie intracarotidienne (iode combiné à du sérum physiologique ou à du mannitol), ou par la veine jugulaire (iode combiné à du sérum ou à du mannitol). Le mannitol permet d'ouvrir transitoirement la barrière hématoencéphalique et permet ainsi de mieux laisser passer les macro-molécules (ici, l'iode) dans le cerveau. L'utilisation du mannitol a significativement augmenté la concentration en iode dans la tumeur. Les concentrations moyennes obtenues pour les injections intracarotidiennes sont 20.5 ± 0.98 mg/mL après l'administration d'iode et mannitol et 4.1 ± 1.2 mg/mL pour la solution saline (iode + sérum). Pour les injections par la jugulaire, les concentrations moyennes obtenues sont 4.4 ± 2.1 mg/mL avec le mannitol et 1.2 ± 0.98 mg/mL pour la solution saline (iode + sérum). Cette étude a donc montré que l'on pouvait augmenter significativement la concentration en iode dans la tumeur en utilisant du mannitol, c'est-à-dire en ouvrant la barrière hématoencéphalique de manière transitoire.

Les essais précliniques (irradiation à 50 keV) utilisant du **mannitol injecté par voie intraveineuse ou intracarotidienne** [Adam et al., 2006] ont montré que la radiothérapie synchrotron peut être significativement améliorée en utilisant une injection intracarotidienne d'iode et de mannitol et pour des doses inférieures à 15 Gy. Le détail des survies en fonction du mode d'administration et de la dose prescrite est présenté figure 2.17. Pour 25 Gy, les rats irradiés seuls obtiennent la meilleure augmentation de survie (607%) tandis qu'avec le mannitol, la moyenne de survie est plus faible que pour une fraction de 15 Gy. Ceci est probablement dû à la présence de concentrations élevées d'iode dans les vaisseaux qui ont dû détruire ces derniers. Une solution pourrait être d'injecter par voie directe l'agent de contraste et ainsi améliorer la distribution de l'iode et ne plus utiliser les vaisseaux pour administrer la drogue.

L'étude menée par Rousseau *et al.* [Rousseau et al., 2007b] de l'injection intracérébrale et intratumorale d'iode (Iopamidol) par voie directe appelée "**convection enhanced delivery**" (CED) a montré que cette technique est efficace et permet d'obtenir des concentrations élevées d'iode, améliorant les possibilités de la RSRS. Le principe de la CED est d'injecter lentement le produit par voie directe de manière à favoriser la convection par rapport à la diffusion du produit et obtenir ainsi une meilleure distribution. Deux types d'injections ont été étudiés : une injection bolus de 5 μL pendant environ 1 min et une injection dite CED soit 5, 10 et 20 μL avec un débit de 0.5 $\mu\text{L}/\text{min}$. La tomographie quantitative par rayonnement synchrotron a été utilisée pour déterminer la distribution

d'iode obtenue. Des simulations Monte Carlo ont été réalisées pour évaluer le plan de traitement correspondant à cette distribution en iode. Les deux types d'injection ont permis d'obtenir des concentrations élevées en iode dans la zone perfusée et cette concentration décroît de façon exponentielle ($e^{-\frac{t}{\tau}}$) avec une constante de temps τ de 50 minutes. Ceci conviendrait pour la radiothérapie. Les injections par CED ont permis d'obtenir des distributions mieux contrôlées que par l'injection de bolus en terme d'uniformité et du contrôle du volume de distribution de l'iode. La distribution de dose obtenue pour l'injection par CED est représentée figure 2.18 et montre que l'on peut obtenir un gradient de dose élevé permettant une bonne protection du tissu cérébral sain. La CED semble donc être un excellent moyen d'améliorer la radiothérapie par rayonnement synchrotron en terme de distribution d'agent mais aussi de concentration.

Fractionnement de la dose : Norman *et al.* [Norman et al., 1997] ont montré que sur les tumeurs spontanées du chien la survie augmente avec le nombre de fraction pour une même dose délivrée. Le fractionnement temporel de la dose reste un protocole qui mériterait d'être étudié mais n'a pas été essayé pour le traitement des gliomes par rayonnement synchrotron car il est difficile à mettre en place en termes d'accès au faisceau.

2.2.2 Synthèse des études utilisant des agents pharmacologiques

L'utilisation de drogues capables de pénétrer dans les cellules et de se "fixer" à l'ADN permettrait que les photo-électrons et électrons Auger, produits lors de l'interaction des photons incidents sur les atomes lourds, soient générés à proximité de l'ADN et ainsi augmenterait la probabilité de générer des cassures double-brins. L'effet Auger est un phénomène physique qui libère beaucoup d'énergie dans son environnement immédiat, dans un rayon de l'ordre de 10 nm [Bernhardt et al., 2004]. C'est pourquoi, l'utilisation d'éléments lourds que l'on peut vectoriser au niveau de l'ADN des cellules, devient intéressante pour la thérapie, pour obtenir une forte toxicité au niveau des cellules tumorales. En effet, si une interaction photoélectrique est obtenue sur l'élément lourd et si la voie de déséxcitation est non-radiative, il y a aura émission d'électrons Auger. Pour étudier ce phénomène, travailler avec un faisceau synchrotron (monochromatique) permet de comparer les lésions cellulaires obtenues avec des photons d'énergie juste en dessous ou au dessus du seuil K d'un élément lourd permettant de favoriser ou non l'effet photoélectrique et donc l'effet Auger. C'est à partir de cette idée que de nombreuses études ont été menées avec différents agents pharmacologiques. Les principaux agents sont : le cisplatine ou CDDP (cis-diamminedichloroplatinum (II)), le carboplatine (cis-diammine(cyclobutane-1,1-dicarboxylate-O,O')platinum(II)), le PtTC (dicholoroterpyridine platine) et l'IUdR (5-iodo-2'-désoxyuridine).

2.2.2.1 Description synthétique des principaux agents pharmacologiques utilisés

Le PtTC est un intercalant de l'ADN, c'est-à-dire qu'il peut se positionner entre des bases de l'ADN mais n'y forme pas de liaisons fortes (se fixe de manière non-covalente) et n'y est donc pas fixé.

Le cisplatine et le carboplatine sont des agents alkylants formant des adduits de l'ADN. Des liaisons covalentes (fortes) relient deux bases de l'ADN au complexe platiné et déforme la molécule d'ADN. Le cisplatine est l'un des agents cytotoxiques les plus efficaces et les plus utilisés pour traiter de nombreux cancers. Il est habituellement prescrit en poly-

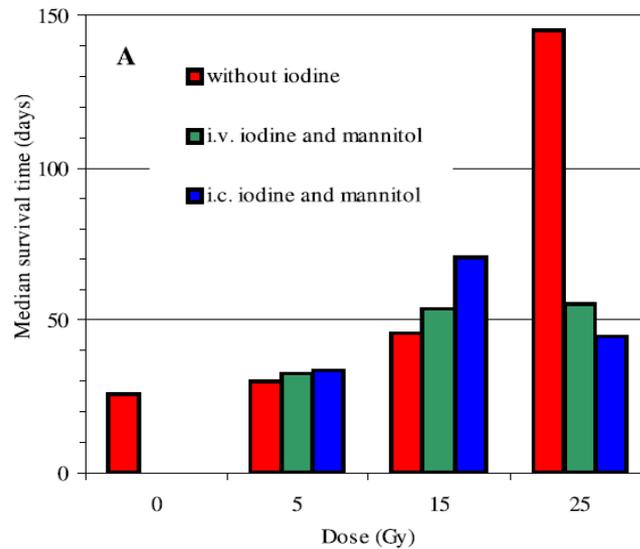


Figure 2.17 – Les médianes de survies obtenues en fonction de la dose et du traitement : témoins, irradiation seule, irradiation et injection d'iode plus mannitol par voie intraveineuse ou intracarotidienne. Pour une irradiation tomographique (360°) à 50 keV, d'après Adam *et al.* [Adam *et al.*, 2006].

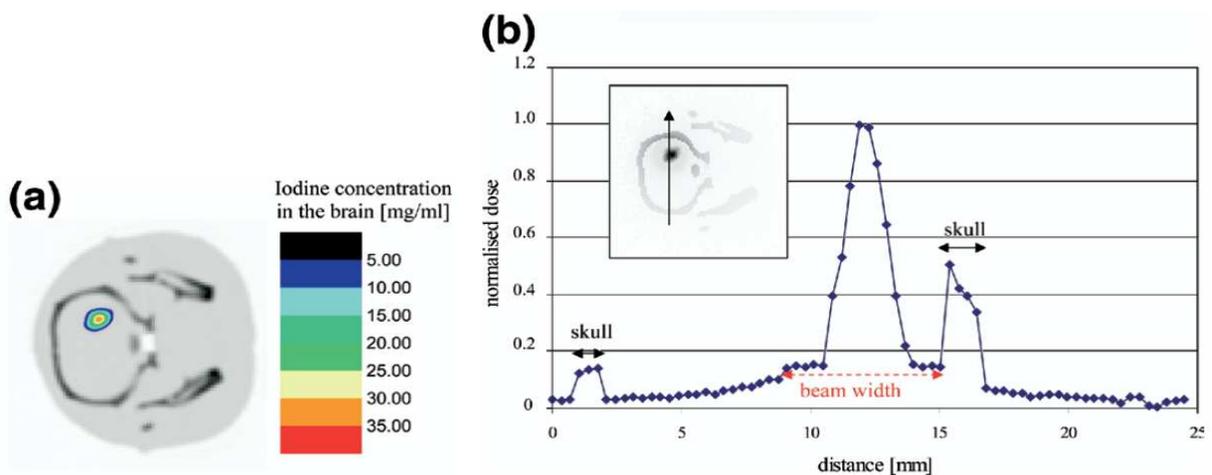


Figure 2.18 – Distribution de dose simulée pour une radiothérapie stéréotaxique par rayonnement synchrotron (RSRS) pour une injection de $5 \mu\text{L}$ de Iopamidol par “convection enhanced delivery” (CED) chez un rat porteur d'un gliome (F98). (a) Distribution segmentée d'une coupe axiale d'une image tomographique quantitative (b) Profil de dose obtenue par simulations Monte Carlo pour un traitement RSRS à 50 keV et avec un faisceau de $6 \times 6 \text{ mm}^2$, d'après Rousseau *et al.* [Rousseau *et al.*, 2007b].

chimiothérapie, en association avec d'autres médicaments antinéoplasiques⁹. La différence entre le carboplatine et le cisplatine est, en pratique, qu'il est nécessaire d'incuber 7.5 fois plus longtemps et avec une concentration 10 fois plus élevée pour obtenir le même nombre d'adduits avec du carboplatine qu'avec du cisplatine [Hongo et al., 1994].

L'IUdR a un autre mode de fonctionnement, c'est un analogue de la base thymidine (même structure chimique). Il peut ainsi remplacer une thymidine lors de la phase de synthèse du cycle cellulaire ou pendant la réparation. Cette propriété est intéressante pour le traitement des tumeurs cérébrales puisque les cellules tumorales se divisent beaucoup à l'inverse des cellules saines du cerveau. L'IUdR ciblerait ainsi "naturellement" les cellules tumorales. Il est par contre nécessaire de le laisser un temps suffisamment long pour qu'il incorpore l'ADN puisqu'il ne s'incorpore que pendant les divisions cellulaires. C'est un radiosensibilisateur.

2.2.2.2 Résultats obtenus avec le cisplatine (CDDP)

Études *in vitro* Le seuil K du platine est à 78.39 keV. Les courbes de survie cellulaire obtenues au synchrotron en présence de cisplatine où les cellules ont été irradiées juste au-dessous et au-dessus du seuil K sont identiques (cf figure 2.19) [Corde et al., 2002]. Deux traitements au cisplatine ont été testés : 0.1 μM pendant 48h et 1 μM pendant 12 h. La forte concentration correspond à ce que l'on peut obtenir *in vivo* [Troger et al., 1991] et conduit à une forte diminution de la survie des cellules (17% de survie spécifique¹⁰, 4.5×10^6 atomes de platine/ cellules). Une plus forte concentration ne peut pas être atteinte sans un effet létal total sur les cellules. Pour 0.1 μM et 48h d'incubation, la quantité d'atomes de platine par cellule est 7×10^4 , la survie spécifique est alors de 66%.

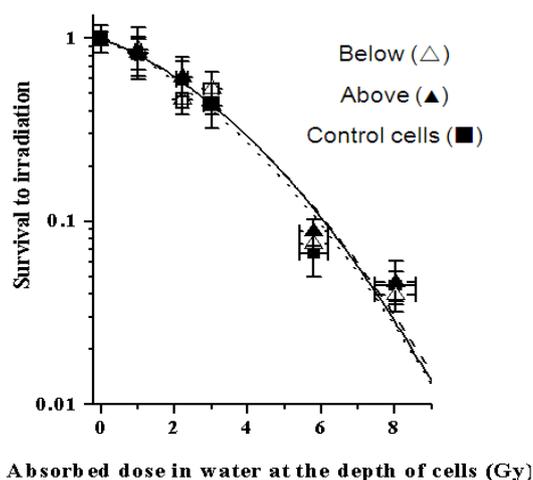


Figure 2.19 – Courbes de survie normalisées de cellules SQ20B exposées à 0.1 μM de CDDP pendant 48 h et irradiées en dessous et au dessus du seuil K du platine (78.39 keV), d'après Corde *et al.* [Corde et al., 2002]. La survie spécifique en présence de platine est 66%.

Il n'a donc pas été observé de différences de survie cellulaire en irradiant au dessus ou au dessous du seuil K du platine. La variabilité de l'incorporation du cisplatine dans les

9. Néoplasie : Qui se rapporte à une tumeur ou aux processus de constitution de cette tumeur.

10. La survie spécifique correspond au pourcentage de survie lorsque les cellules sont incubées avec l'agent pharmacologique seulement (dose = 0 Gy).

cellules peut conduire à deux situations différentes qui expliqueraient que l'on n'ait pas observé de différence entre l'irradiation en dessous et au-dessus du seuil K du platine :

- Si le platine est entré dans les cellules en quantité suffisante et que des adduits de l'ADN ont été formés, il peut alors y avoir des interactions photons-platine engendrant des cassures double-brins. Cependant si la cellule est déjà morte à cause de l'action du cisplatine, l'effet ne sera plus visible.
- Si le platine ne se situe pas au niveau de l'ADN, alors il n'y aura pas de différence entre une irradiation en dessous ou au-dessus du seuil K du platine, car les électrons Auger ont un parcours très petit ($< 10 \text{ nm}$).

Études moléculaires L'approche moléculaire proposée par Corde *et al.* a permis d'observer une nette augmentation du taux de cassures produites sur l'ADN du fait de l'interaction entre les atomes de platine et le rayonnement X d'énergie supérieure au seuil K [Corde et al., 2003]. Ceci renforce l'hypothèse précédente qui suppose que les cellules contenant une certaine quantité de cisplatine sont déjà mortes et que la production d'électrons Auger dans ces cellules ne conduira donc pas à une létalité supplémentaire.

Il faut souligner que dans cette étude, de fortes doses et fortes concentrations en platine ont été utilisées pour obtenir les effets escomptés. Les cellules ont été incubées dans 3 ou 30 μM pendant 6h. L'incubation dans 30 μM a permis d'avoir 3×10^8 atomes de platine par cellule, ce qui correspond à une survie nulle ou quasi nulle si on extrapole la courbe figure 2.20 indiquant la survie spécifique des cellules en fonction de la quantité d'atomes de platine dans la cellule.

Cette étude permet donc de mettre en évidence au niveau moléculaire l'effet Auger mais dans des conditions non réalisables ni pour des études de survie cellulaire *in vitro* (cellules déjà toutes mortes uniquement avec la drogue) ni pour des études *in vivo* chez l'animal pour des raisons de toxicité.

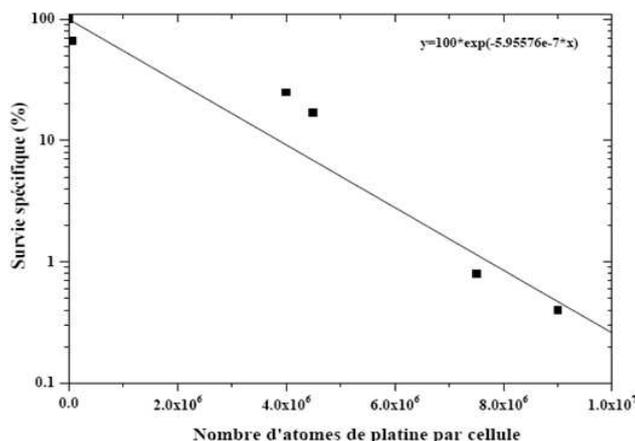


Figure 2.20 – Survie spécifique des cellules SQ20B en fonction de la quantité de platine présent dans les cellules, d'après la thèse de S. Corde [Corde, 2002].

Études *in vivo* Biston *et al.* ont publié en 2004 [Biston et al., 2004] les résultats obtenus du traitement radio-chimiothérapeutique combinant l'injection par voie directe (en bolus) de CDDP et l'irradiation en dessous et au-dessus du seuil K du platine. Les survies médianes obtenues en fonction de la dose, de l'énergie du faisceau et de la quantité de cisplatine injectée sont présentées figure 2.21. Les rats porteurs de gliome F98 ont reçu 3 ou 5 μg de CDDP dans 5 μL de solution isotonique de NaCl. Les survies médianes obtenues au-dessous et au-dessus du seuil K du platine ne sont pas significativement différentes.

Par contre, dans les deux cas, les survies médianes sont les meilleures jusqu'alors obtenues pour ce modèle de gliome radiorésistant (206 jours).

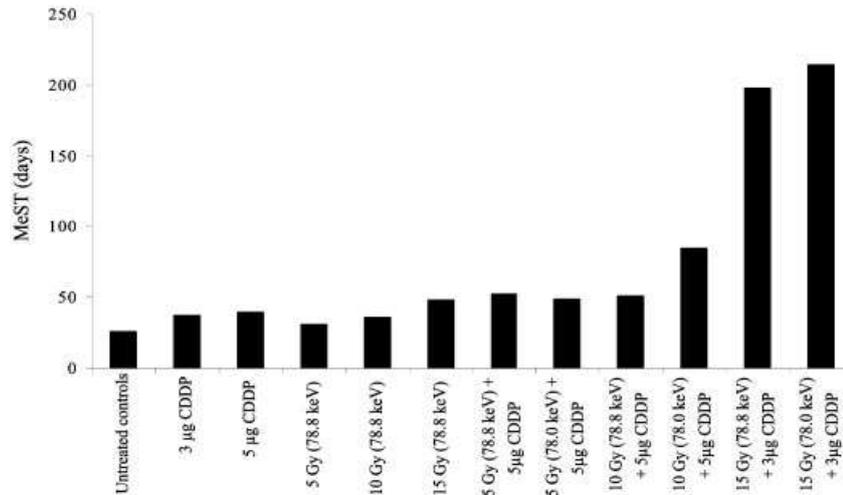


Figure 2.21 – Survies médianes (MeST) exprimées en jours après implantation des tumeurs en fonction du traitement. Il s’agit de rats porteurs de gliomes (F98), d’après Biston *et al.* [Biston et al., 2004].

Rousseau *et al.* [Rousseau et al., 2009c] ont publié en 2009 les résultats *in vivo* de l’injection par “convection enhanced delivery” (CED) de cisplatine ($6 \mu\text{g}/20 \mu\text{L}$) chez le rat porteur de gliome (F98). Par la même occasion, ils ont testé la combinaison cisplatine et irradiation avec un accélérateur linéaire (6 MV) pour voir si l’efficacité de la combinaison CDDP *versus* irradiation était due à la photoactivation de l’élément lourd, à l’effet Auger recherché. Finalement, les résultats de cette étude ont mis en évidence que la combinaison irradiation externe *versus* injection de cisplatine par CED permet d’augmenter significativement la survie des rats et ceci indépendamment de l’énergie du faisceau utilisé (78.8 keV ou 6 MV). Ce n’est donc probablement pas l’effet Auger qui explique l’efficacité du traitement observée. L’injection seule de cisplatine délivrée par CED est, en soit, efficace. Elle a permis de guérir 13% des animaux. En combinant l’injection de cisplatine avec une irradiation, 17 et 18% de survie à long terme pour une irradiation à 6 MV et à 78.8 keV respectivement ont été obtenus. Les médianes de survies obtenues sont 25, 32, 37 et 45 jours pour les témoins, la chimiothérapie seule et la radiothérapie seule à 6 MV et à 78.8 keV. Les médianes de survie obtenues pour le traitement combiné sont de 48 et 56 jours pour l’irradiation à 6 MV et à 78.8 keV respectivement. Ces essais ont confirmé qu’un volume de $20 \mu\text{L}$ est approprié pour injecter le CDDP en CED. Le problème a été que certains rats traités par chimiothérapie sont décédés rapidement alors que d’autres survivent longtemps. Ceci peut expliquer que les médianes de survie obtenues soient inférieures à celles obtenues par Biston *et al.* alors qu’ils avaient injecté une quantité de cisplatine deux fois plus grande.

2.2.2.3 Résultats obtenus avec le carboplatine

Différentes expérimentations précliniques ont été menées pendant les thèses de Marie-Claude Biston (2004) et Julia Rousseau (2007) concernant la combinaison irradiation et carboplatine. Synthétiquement :

- les irradiations avec un faisceau de 6 MV ou 78.8 keV donnent des résultats similaires [Rousseau et al., 2007a]

- le fractionnement temporel de la dose (3 fois 8 Gy) a permis d'obtenir 16.6 et 8.3% de survie à long terme pour la combinaison carboplatine et irradiation à 6 MV et 80 keV (20 μ g/ 20 μ L injecté par CED) [Rousseau et al., 2007a]
- l'injection du carboplatine avec une pompe osmotique Alzet (permet l'infusion lente du produit, pendant 6 jours) combinée avec une irradiation de 15 Gy délivrée au synchrotron (78.8 keV) a conduit à 55% de survie à la fin de l'expérimentation, soit 713% d'augmentation de l'espérance de vie [Rousseau et al., 2009b]. Un résultat identique a ensuite été obtenu avec un faisceau de 6 MV (thèse de Laure Bobyk, 2010).

Les résultats obtenus montrent l'efficacité de l'approche et ont suscité le transfert de celle-ci vers des essais cliniques par Pr RF Barth (Columbus, USA). Il reste à optimiser l'équilibre entre la neurotoxicité et l'efficacité thérapeutique, les paramètres d'irradiation et la distribution de la drogue (spatialement et temporellement).

2.2.2.4 Résultats obtenus avec l' IUdR

L'IUdR est transporté à travers la membrane cellulaire. Il s'agit d'un analogue de la thymidine ce qui lui permet de rentrer en compétition avec celle-ci durant la phase S du cycle cellulaire et ainsi d'intégrer la structure de l'ADN. L'IUdR est déjà connu comme étant un agent radiosensibilisant [Lebovics and DeLaney, 1993]. L'idée de combiner l'IUdR avec une irradiation à 50 keV est de générer des cascades d'électrons Auger de fort TEL (Transfert en énergie linéique) au niveau de l'ADN. Différentes approches peuvent être utilisées avec l'IUdR dont l'iode peut être stable (I-127) ou radioactif (I-123, I-125 ou I-131).

L'administration prolongée et loco-régionale d'IUdR radioactif (125) a été montrée comme efficace et a permis d'obtenir un taux de guérison de 10-20% sur un modèle de rat porteur de gliosarcomes (9L) [Kassis et al., 1998]. Pour ces atomes radioactifs, un triple phénomène se produit :

- la vacance due à l'interaction photoélectrique d'un photon incident sur l'atome d'iode est comblée par réarrangement électronique (cascade d'électrons Auger ou photons de fluorescence)
- la capture électronique du noyau (excès de protons) induit une vacance électronique sur la couche K
- la conversion interne du noyau provoque une émission de rayons- γ .

Pour les atomes d'iode stables, on souhaite à haute énergie (accélérateurs conventionnels, $>$ MV) profiter de l'effet radiosensibilisant de l'IUdR, tandis qu'à basse énergie ($<$ 100 keV), l'idée serait de provoquer "en plus" des cascades d'électrons Auger au niveau de l'atome d'iode grâce à un effet photoélectrique.

Pour la photoactivation de l'iode, Karnas *et al.* [Karnas et al., 1999] ont évalué le facteur d'augmentation de dose pour différentes énergies monochromatiques et taux d'incorporation de l'IUdR. Ils ont démontré que 50 keV est l'énergie optimale pour obtenir le facteur d'augmentation de dose (DEF) maximal et non 33.17 keV, l'énergie juste au dessus du seuil K de l'iode. Ces travaux ont été confirmés par Corde *et al.* [Corde et al., 2004] qui ont obtenu un DEF de ~ 2 à 50 keV et ~ 1.25 à 33.5 keV (cf figure 2.22) pour 48h d'incorporation de 10 μ M d'IUdR.

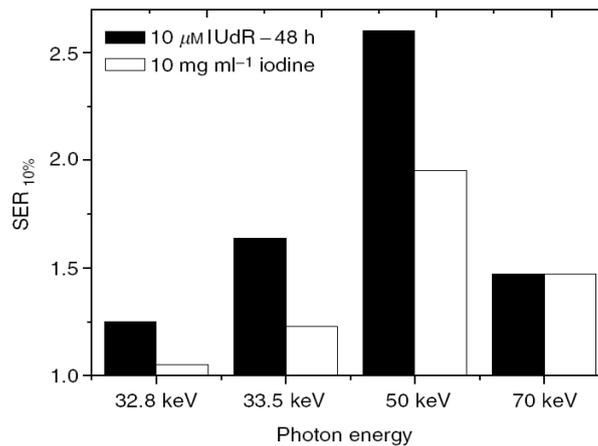


Figure 2.22 – Comparaison en fonction de l'énergie du facteur d'augmentation de sensibilité ($SER_{10\%}$) entre des cellules pré-incubées pendant 48h avec $10 \mu M$ d'IUdR et des cellules irradiées avec 10 mg/mL d'agent de contraste iodé (Ioméron) dans le milieu, d'après Corde *et al.* [Corde et al., 2004].

L'étude *in vivo* de Rousseau *et al.* [Rousseau et al., 2009a] a consisté à étudier le potentiel thérapeutique de la combinaison d'IUdR et d'irradiation au synchrotron à 50 keV chez des rats porteurs de gliomes (F98). L'IUdR a été injecté via une pompe osmotique Alzet qui a permis d'infuser l'IUdR en continu pendant 7 jours avant l'irradiation. La concentration moyenne d'IUdR obtenue dans la tumeur est $19 \mu g/g$. 15 Gy ont été délivrés en une seule fraction à la tumeur par irradiation en arthrothérapie dynamique sur 360° . Les survies médianes obtenues sont 24, 44, 32 et 46 jours pour les témoins, l'irradiation seule, la chimiothérapie seule et la combinaison chimio-irradiation respectivement. Chaque traitement a permis individuellement une augmentation significative de la survie mais la combinaison des deux n'a pas donné de résultats significativement meilleurs. Des cassures double-brins sont théoriquement générées par la photactivation de l'IUdR, cependant, il se peut que l'effet chimiothérapeutique de l'IUdR qui est ici important masque les effets Auger obtenus. Le taux de remplacement de base thymidine par l'IUdR n'a pas pu être évalué. Il est aussi possible que ce taux ait été insuffisant pour obtenir un effet physique. D'autres études sont nécessaires pour comprendre pourquoi la radio-chimio-thérapie n'est pas plus effective que la radiothérapie seule.

Une autre approche utilisant un implant permettant de faire diffuser progressivement l'agent pharmacologique est reportée dans la littérature et propose d'utiliser un polymère biodégradable. Doiron *et al.* [Doiron et al., 1999] ont utilisé ce type d'implant pour faire diffuser du BrdU qui est un analogue de la thymidine comme l'IUdR. Il a été montré que l'effet de radiosensibilisation du BrdU dépend du fractionnement de la dose. Aucun effet de radiosensibilisation n'a été obtenu pour une fraction de 16.5 Gy. Par contre, le "tumor growth factor" (TGD, temps au bout duquel le volume tumoral a quadruplé) est augmenté en présence de BrdU lorsque le traitement est fractionné, montrant l'effet radiosensibilisateur du BrdU. Pour un fractionnement de $5 \times 6 \text{ Gy}$, le TGD passe de 22 à 27 jours. Pour un fractionnement de $10 \times 6 \text{ Gy}$, le TGD a été augmenté de 45-77 jours et 25% des volumes tumoraux ont été réduits jusqu'à n'être plus détectables et il n'y a pas eu de récurrence tumorale à 120 jours. La radiosensibilité augmente donc avec le fractionnement et montre l'importance de fractionner temporellement les traitements utilisant ce type d'agent pharmacologique.

2.3 Vers un modèle *in vitro* 3D

Dans notre laboratoire, les expérimentations *in vitro* ont été réalisées jusqu’à présent avec un modèle 1D de cellules en suspension. Les cellules baignent alors dans un milieu de culture homogène et isotrope. L’irradiation se fait dans un tube de congélation de 2 mL en rotation ($180^\circ/s$) pour éviter la sédimentation des cellules (cf figure 2.23). Ce modèle est couramment utilisé dans l’équipe, mais représente un “modèle idéal” où toutes les cellules ont accès aux nutriments, à l’oxygène et sont en contact avec les possibles radiosensibilisants présents dans le milieu (par exemple, l’agent de contraste iodé). Cette approche permet d’évaluer de manière préliminaire l’efficacité d’un traitement mais reste cependant éloignée de la réalité biologique complexe d’une tumeur et, par conséquent, des études *in vivo*.

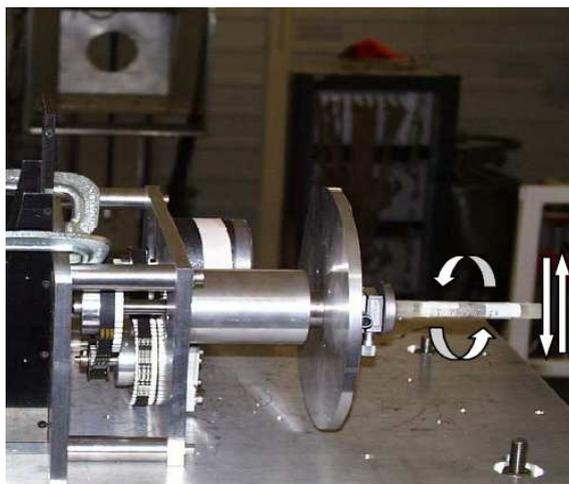


Figure 2.23 – Dispositif d’irradiation cellulaire par rotation de cryotubes de 2 mL [Corde, 2002].

Une approche possible pour étudier la biologie des tumeurs ou encore leur réponse à un traitement de radiothérapie ou de chimiothérapie est d’obtenir une culture de cellules cancéreuses sous la forme de sphéroïdes (modèle en 3D) qui simulent des micro-métastases ou des microrégions inter-vasculaires de grosses tumeurs [Casciari et al., 1988]. Il a été démontré que les sphéroïdes, comparés aux cultures conventionnelles, sont plus proches des situations *in vivo* en termes d’arrangement et d’environnement cellulaire [Mueller-Klieser, 1997]. Ce modèle représente aussi un outil pour évaluer l’action des agents pharmacologiques sur une population de cellules hétérogène au niveau des cycles cellulaires (certains agents étant incorporés dans une certaine phase cellulaire, cela restreint son efficacité aux cellules se trouvant dans cette phase), mais ceci n’est pas l’objet de cette étude. Les sphéroïdes représentent donc un modèle poreux de complexité intermédiaire entre le modèle *in vitro* 1D et le modèle *in vivo*.

Une partie de notre travail a consisté à mettre en place ce modèle dans l’équipe, pour intégrer dans l’évaluation *in vitro* des agents de contraste ou agents pharmacologiques des conditions de type tumoral, hétérogènes, notamment en terme de taux d’oxygène, d’accès aux nutriments et de phases du cycle cellulaire. Dans cette étude, nous avons modélisé et étudié les propriétés de diffusion des molécules d’agents de contraste dans les sphéroïdes ainsi que l’hétérogénéité de la structure. Le sphéroïde représente un modèle simple qui permet d’étudier la survie cellulaire pour une distribution de l’agent de contraste autour des cellules plus proche de la réalité et plus hétérogène que le modèle 1D de cellules en suspension. Il s’agit donc d’un modèle approprié pour déterminer, par exemple, l’énergie

optimale des photons qu'il faut utiliser pour obtenir l'effet thérapeutique maximal dans un milieu hétérogène.

Nous présentons dans un premier temps, les caractéristiques des deux modèles *in vitro* (cellules en suspension et sphéroïdes), puis quelques exemples d'études utilisant des sphéroïdes pour illustrer quelles informations ce modèle peut apporter. Enfin, nous posons les propriétés de diffusion des drogues dans une tumeur en général, ainsi que des méthodologies expérimentales utilisant les sphéroïdes comme modèle pour étudier la cinétique de ces drogues.

2.3.1 Différents modèles *in vitro*

Différents modèles *in vitro* existent et sont de complexités différentes. Nous nous sommes intéressés à deux modèles dans le cadre de notre étude :

- le modèle 1D de cellules en monoculture
- le modèle 3D, appelé sphéroïde.

2.3.1.1 Les monocultures de cellules individuelles, lignées immortelles

Ce type de culture cellulaire est le plus simple et le plus utilisé. Il consiste à faire croître des cellules individuelles dans une flasque de culture. Les cellules étant adhérentes, elles se divisent et recouvrent au fur et à mesure la surface de la flasque. Dans le cas des monocultures, on distingue deux états différents : la phase à confluence (les cellules tapissent toute la flasque) et la phase de croissance exponentielle (les cellules peuvent encore se diviser). Il est important de distinguer ces deux cas de figure puisque les cycles cellulaires seront différents (principalement phases S¹¹ et G₀¹² pour les cellules en phase exponentielle et les cellules à confluence respectivement). Un second point important qui peut modifier la réponse cellulaire est le nombre de passages des cellules utilisées. Le nombre de passages correspond au nombre de fois que l'on remet en culture les cellules, cela reflète en quelque sorte le nombre de générations de cellules et les possibles modifications génétiques associées.

Phase cellulaire La réponse cellulaire à un traitement peut dépendre du cycle cellulaire comme l'ont montré Genç *et al.* [Genç et al., 2004] pour l'utilisation d'un agent chimiothérapeutique en tant que radiosensibilisateur. Ils ont évalué l'utilisation de la gemcitabine (agent chimiothérapeutique). Une augmentation des effets de l'irradiation de cellules de gliome humain (Gli-6) en présence de ce radiosensibilisateur a été obtenue, mais seulement pour les monocultures en phase de croissance exponentielle et non pour les cellules à confluence. Ceci montre l'importance de la distribution des cycles cellulaires pour l'efficacité de la gemcitabine qui est un antimétabolite spécifique de la phase S du cycle cellulaire (phase de synthèse de l'ADN). La gemcitabine est donc incorporée dans les cellules en phase S. Une conséquence suggérée par ces observations est que l'utilisation de cet agent en clinique aura une efficacité inférieure aux résultats obtenus avec les monocultures en phase de croissance exponentielle puisque, dans une tumeur, la distribution en cycles cellulaires est très hétérogène et les cellules ne seront pas toutes en phase S.

Nombre de passage Un deuxième point important pour ce modèle est de discuter des mutations génétiques. La tumorigenèse est un processus qui s'effectue en une succession de changements génétiques qui transforme des cellules saines en cellules fortement malignes.

11. phase du cycle cellulaire durant laquelle le matériel génétique est répliqué

12. stade quiescent de non-division

Si des cellules tumorales sont mises en culture, seulement une partie sera capable de proliférer mais les autres peuvent être tout de même vivantes. Pour les premiers passages (mise en culture de ces cellules), une grande proportion des cellules ne prolifèrent pas. Au fur et à mesure des passages, de remise en culture, la lignée est plus sélective et comprend une proportion plus élevée de cellules capable de proliférer. C'est pourquoi les modèles *in vitro* de lignées dites immortelles ne représentent qu'une partie des cellules tumorales.

2.3.1.2 Les sphéroïdes

Le sphéroïde est un modèle 3D utilisant une lignée cellulaire immortelle. Ce modèle a l'avantage de rester simple à obtenir et d'être un peu plus proche de la réalité *in vivo*. Cependant, sa composition en cellules reste relativement homogène puisqu'elle provient d'une seule lignée cellulaire (contrairement à une vraie tumeur). Néanmoins, de nombreuses études ont montré que ce modèle présente des caractéristiques communes avec une tumeur que ce soit d'un point de vue morphologique ou comportementale :

- contact cellule-cellule
- variation dans la distribution en cycle cellulaire
- diffusion
- métabolismes altérés
- hypoxie.

La figure 2.24-b illustre les analogies morphologiques d'une tumeur et d'un sphéroïde. Une tumeur est alimentée par un réseau vasculaire qui n'est pas présent dans le sphéroïde ; toutefois ce réseau peut se raréfier et créer des régions de nécrose dans la tumeur qui sont aussi présentes dans le sphéroïde. Ce dernier a une géométrie sphérique (figure 2.24-a) avec un arrangement concentrique de cellules qui prolifèrent rapidement (plutôt vers l'extérieur), de cellules qui prolifèrent lentement (dans la zone intermédiaire entre la zone de prolifération et le cœur nécrotique) et du cœur nécrotique.

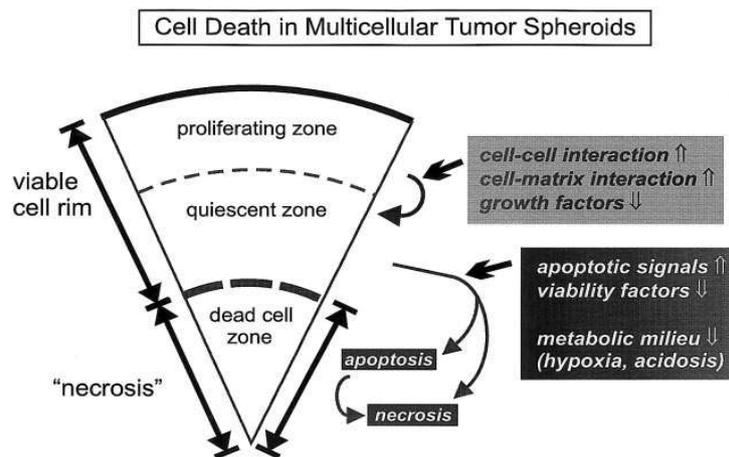
Le sphéroïde peut être assimilé à un milieu poreux constitué de cellules et d'une matrice extracellulaire, encore appelée espace interstitiel. Il possède une certaine porosité ϵ , valeur numérique représentative de l'espace interstitiel et qui est définie comme le rapport du volume de l'espace interstitiel du sphéroïde divisé par son volume total [Truskey et al., 2007].

De nombreuses études ont montré que les cellules de sphéroïdes sont plus radio-résistantes que les cellules provenant de monocultures. Ceci est probablement dû à la présence de zones d'hypoxie et d'une forte proportion de cellules non-proliférantes [Olive and Durand, 1994, Dertinger and Hülser, 1981]. L'hypoxie a longtemps été proposée comme le principal facteur responsable de la radio-résistance de ces cellules. Des études n'ont cependant pas obtenu de corrélation entre hypoxie et radio-résistance suggérant que d'autres facteurs tels que le contact entre les cellules et la fraction de cellules non-proliférantes jouent un rôle important dans la radio-résistance [Görlach and Acker, 1994, Sminia et al., 2003, Buffa et al., 2001].

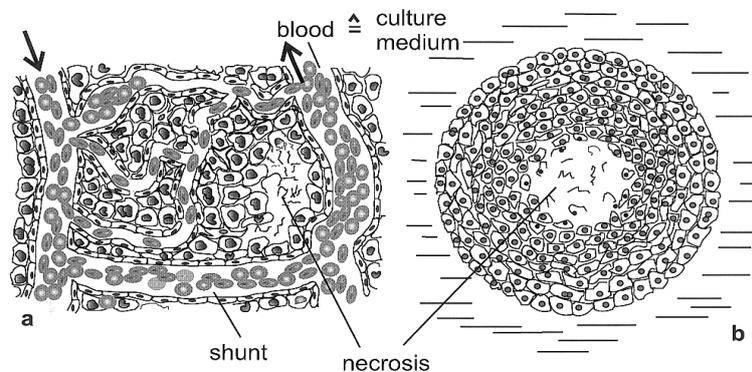
Le sphéroïde est donc un modèle *in vitro* de complexité intermédiaire entre les monocultures et les modèles *in vivo*, pertinent pour des études d'efficacité de traitement préliminaires.

2.3.1.3 Exemple d'étude utilisant des sphéroïdes

Nous parlons ici d'une étude issue de la littérature, portant sur des agents s'incorporant dans l'ADN durant la phase S du cycle cellulaire : l'IUdR. Le but est de montrer l'importance de considérer les différentes phases cellulaires pour tester certaines approches thérapeutiques ainsi que les possibilités qu'offre le sphéroïde sur ce point.



a) Les sphéroïdes ont une géométrie concentrique, avec trois zones principales : une couche de cellules en prolifération rapide, une couche de cellules en prolifération lente et une couche de cellules mortes (appelée aussi cœur nécrotique)



b) Analogie entre une tumeur et un sphéroïde, on retrouve notamment la zone nécrotique en commun. On peut noter l'absence de vascularisation dans le sphéroïde.

Figure 2.24 – Illustrations du sphéroïde d'après Wolfgang Mueller-Klieser [Mueller-Klieser, 2000]

Étude sur l'IUdR Neshasteh-Riz *et al.* [Neshasteh-Riz et al., 1998] ont étudié la cytotoxicité de différents IUdR radioactifs : $^{123}\text{IUdR}$, $^{125}\text{IUdR}$ et $^{131}\text{IUdR}$. Le principe est qu'après incorporation d'IUdR dans l'ADN, les particules émises sont très toxiques pour la cellule. L' $^{123}\text{IUdR}$ et l' $^{125}\text{IUdR}$ sont des émetteurs d'électrons Auger tandis que l' $^{131}\text{IUdR}$ est un émetteur β^- , dont le parcours des électrons est plus important. La limitation reconnue des traitements avec de l'IUdR, dont l'iode est émetteur d'électrons Auger, est l'existence de cellules malignes qui ne seront pas en phase de synthèse de l'ADN durant le temps d'exposition des cellules à l'IUdR. L'IUdR ne sera pas intégré dans toutes les cellules tumorales. Pour limiter ce problème, on peut prolonger ou répéter les expositions ou utiliser une autre modalité de traitement complémentaire. Il a été proposé d'utiliser l' $^{131}\text{IUdR}$ dont l'électron émis a un parcours suffisant pour pouvoir atteindre les cellules voisines non-proliférantes. Des tests clonogéniques ont permis de tester la cytotoxicité des 3 agents sur trois modèles cellulaires : des cellules provenant de monocultures en phase de croissance exponentielle, à confluence et sous forme de sphéroïdes. Le modèle de sphéroïdes permet d'avoir une distribution en phases cellulaire hétérogène comme dans une tumeur contrairement aux cellules en monoculture (phase S pour les cellules en phase de croissance et G_0 pour les cellules en phase dite de plateau, les cellules à confluence) [Neshasteh-Riz et al., 1997]. Pour les sphéroïdes, une incorporation optimale de l'IUdR a été observée en périphérie (où se trouvent les cellules proliférantes) et la concentration décroît avec la profondeur (vers le centre du sphéroïde) [Neshasteh-Riz et al., 1997]. Les courbes de survie obtenues pour les trois modèles en fonction de la dose (kBq mL^{-1}) sont présentées figures 2.25, 2.26 et 2.27.

La figure 2.25 montre les survies obtenues en fonction de la concentration en IUdR radioactif pour le modèle de cellules en monoculture, en phase de croissance exponentielle. Les réponses obtenues quel que soit l'iode radioactif sont exponentielles. Pour réduire la survie cellulaire à 37%, il faut environ 4 fois plus d'iode 123 que 125 et il faut 8 fois plus d'iode 131 que d'iode 125. L'efficacité de l'iode 125 et 123 par rapport à l'iode 131 est due au fort TEL (transfert d'énergie linéique) des électrons Auger par rapport aux particules β^- générés par l'iode 131. Un point important observé est qu'il n'y a pas de saturation, il est donc possible pour ce modèle cellulaire d'atteindre le taux de survie voulu.

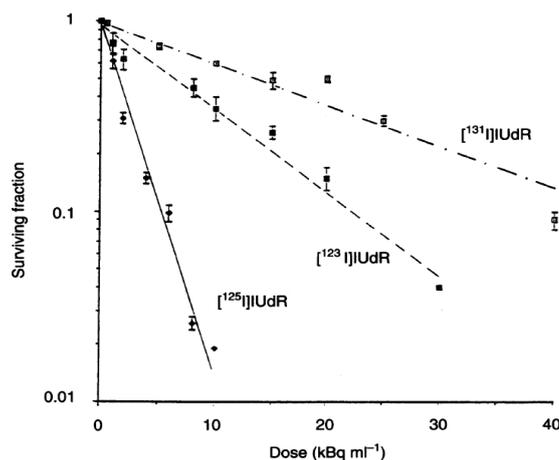


Figure 2.25 – Courbes de survie de cellules de monoculture de gliome humain UVW en phase exponentielle de croissance, après incubation dans différentes concentrations radioactives et pour différents éléments radioactifs, d'après Neshasteh-Riz *et al.* [Neshasteh-Riz et al., 1998].

La figure 2.26 montre les courbes de survie obtenues pour des cellules en phase G_0 (cellules en monoculture et à confluence). L'effet des trois types d'IUdR est atténué par

la présence de cellules qui ne sont pas en cycle cellulaire (division). Le pourcentage de cellules tuées augmente avec la concentration jusqu'à un certain seuil, différent suivant l'élément radioactif considéré.

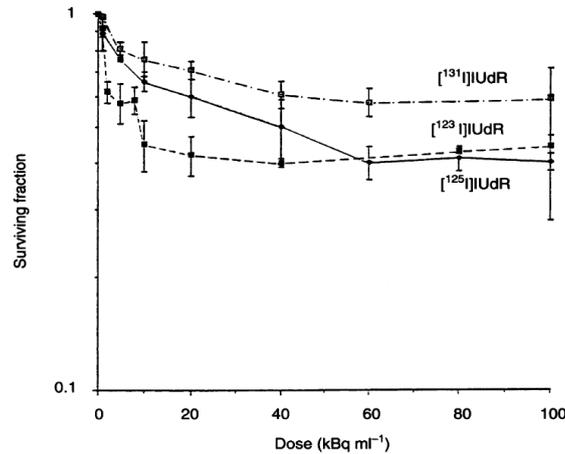


Figure 2.26 – Courbes de survie de cellules de monocultures de gliome humain UVW à confluence, après incubation avec différentes concentrations radioactives et pour différents éléments radioactifs, d'après Neshasteh-Riz *et al.* [Neshasteh-Riz et al., 1998].

La figure 2.27 montre les courbes de survie obtenues en fonction de la concentration en éléments radioactifs pour des sphéroïdes. Les cytotoxicités de l'¹²⁵IUdR et ¹²³IUdR atteignent un maximum d'environ 55 et 70% respectivement et n'augmentent plus au-dessus de 40 kBq/mL. L'¹³¹IUdR apparaît comme plus toxique pour les doses élevées sur les sphéroïdes. Ceci est en accord avec les approches microdosimétriques de cette étude qui ont montré que la majorité de l'énergie des particules β^- est dissipée au-dessus et en dessous de la couche cellulaire. L'¹³¹IUdR est ainsi plus efficace dans les sphéroïdes car même si le nombre de cellules incorporant de l'IUdR n'est pas plus élevé pour l'iode 131 que l'iode 125 ou 123, les β émis peuvent altérer et tuer les cellules avoisinantes qui n'ont pas forcément incorporé d'IUdR.

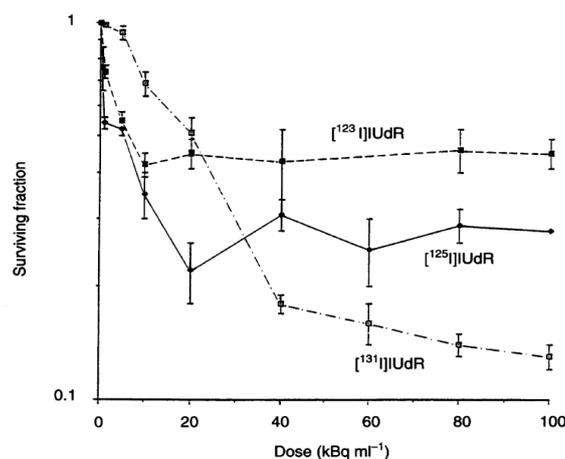


Figure 2.27 – Courbes de survie de sphéroïdes de gliome humain UVW, après incubation avec différentes concentrations radioactives et pour différents éléments radioactifs, d'après Neshasteh-Riz *et al.* [Neshasteh-Riz et al., 1998].

Les auteurs ont ainsi proposé de combiner l'injection d'IUdR émetteur de β et émetteur

d'électrons Auger pour optimiser le traitement par l'IUdR, dans un environnement de type tumoral où toutes les cellules ne sont pas en phase S.

Cette étude montre l'importance de prendre en compte le parcours des particules secondaires, électrons, pour l'efficacité de la thérapie. Il sera tout aussi important pour notre problématique d'évaluer l'énergie optimale des photons incidents et ainsi des photo-électrons générés à l'échelle microdosimétrique, pour que le parcours des électrons soit suffisamment grand, et que les cellules à distance d'atomes d'iode puissent aussi être atteintes.

2.3.2 Pénétration des drogues

2.3.2.1 Micro-environnement tumoral

La difficulté de délivrer des drogues dans une tumeur provient du fait que les cellules cancéreuses prolifèrent plus rapidement que le réseau vasculaire. Ce décalage dans la vitesse de prolifération cellulaire induit une diminution de la densité vasculaire ainsi que l'apparition de populations cellulaires distantes des vaisseaux ($> 100 \mu m$) [Thomlinson and Gray, 1955]. Les zones d'hypoxie résultantes sont caractéristiques des tumeurs. Les conséquences de l'architecture peu organisée de la tumeur sont : un flux sanguin irrégulier, la compression des vaisseaux sanguins et des vaisseaux lymphatiques par les cellules cancéreuses accompagnée d'une augmentation de la pression des fluides interstitiels. La composition et structure de la matrice extracellulaire entraîne une diminution du mouvement des molécules dans les tumeurs.

C'est pour toutes ces raisons, qu'il est difficile de délivrer par voie systémique des drogues aux cellules à distance des vaisseaux fonctionnels, ce qui limite l'efficacité des traitements.

2.3.2.2 Les cellules tumorales

Les cellules tumorales situées à distance des vaisseaux ont un accès limité à l'oxygène et aux nutriments. L'augmentation des produits métaboliques (acides lactiques et carboniques) entraîne une diminution du pH dans les tumeurs. Les cellules hypoxiques sont radiorésistantes et peuvent repeupler la tumeur après une radiothérapie. La quantité de cellules proliférantes diminue avec l'augmentation de la distance entre ces cellules et les vaisseaux sanguins.

L' "inefficacité" des drogues de chimiothérapie sur les cellules tumorales peut donc avoir plusieurs origines :

- si la toxicité est sélective en cycle cellulaire (si par exemple la drogue n'est efficace que pour les cellules dans une certaine phase cellulaire)
- si la drogue est moins active en milieu hypoxique
- la faible concentration en drogue, due à la faible accessibilité des cellules.

Toutes ces considérations montrent qu'il est préférable de travailler sur un modèle cellulaire 3D pour étudier l'influence d'une drogue à but curatif sur les cellules tumorales si le but recherché est de "prédire" la réponse tumorale.

2.3.2.3 Propriétés influençant la pénétration des drogues

Après injection par voie veineuse, la pénétration des drogues à distance des vaisseaux sanguins va tout d'abord dépendre de la perméabilité des vaisseaux sanguins, ainsi que de l'architecture du réseau vasculaire [Hobbs et al., 1998]. Les drogues vont ensuite pénétrer

dans les tissus par diffusion et convection. La diffusion va dépendre des propriétés physico-chimiques tel que le poids moléculaire, la forme, la charge ou encore la solubilité du produit. Les produits solubles dans l'eau vont mieux diffuser dans la matrice extracellulaire tandis que les produits lipophiles vont pouvoir diffuser à travers les membranes des cellules. La convection¹³ peut quant à elle être contrebalancée par la réabsorption de la drogue par le système lymphatique (inexistant dans le cerveau) ou vasculaire.

La pénétration des drogues est multi-paramétrique et il est difficile de modéliser la distribution des drogues dans une tumeur. C'est pourquoi, pour de nombreux problèmes, il est plus pratique d'étudier expérimentalement la cinétique d'une drogue. Les modèles *in vitro* multi-cellulaires sont les modèles les plus couramment utilisés pour étudier qualitativement et quantitativement la pénétration des drogues. Les modèles *in vitro* ne permettent par contre pas de prendre en compte différents paramètres et notamment la pression interstitielle des fluides et les phénomènes de convection.

2.3.2.4 Les sphéroïdes pour étudier la pénétration des drogues

En résumé, les caractéristiques des sphéroïdes qui s'approchent de l'*in vivo* sont : la présence d'une matrice extra-cellulaire, les jonctions fortes entre les cellules, la présence d'un gradient de nutriments, d'oxygène, de cellules proliférantes et pour les sphéroïdes suffisamment gros, de zones d'hypoxie et de nécrose.

Il est possible d'étudier la cinétique d'une drogue dans un sphéroïde notamment par histologie en analyse par fluorescence ou encore autoradiographie pour des marqueurs radioactifs (liste non-exhaustive). Il est aussi possible de détecter la viabilité des cellules de manière plus indirecte par des tests clonogéniques.

Erlichman *et al.* [Erlichman and Vidgen, 1984] ont détecté, avec un test clonogénique de survie cellulaire, la viabilité des cellules en fonction de la profondeur après avoir laissé incuber les sphéroïdes dans une drogue. Les cellules des différentes couches sont obtenues par trypsination successive du sphéroïde. Une autre approche, mise en place par Durand *et al.* [Durand, 1982, Durand, 1986], a consisté à trier les cellules du sphéroïde suivant leur profondeur après avoir incubé le sphéroïde dans du milieu contenant un colorant fluorescent, l'Hoechst. Ce colorant est peu toxique (même s'il se fixe sur l'ADN) pour la cellule et pénètre dans les sphéroïdes suivant un gradient de concentration. Les cellules peuvent être triées par cytométrie de flux suivant leur intensité de fluorescence. La survie des cellules suivant leur profondeur dans le sphéroïde peut ainsi être étudiée après incubation dans une drogue ou autre traitement d'une manière générale.

13. transfert de la matière dû à un gradient de pression

2.4 Problématique générale & introduction des deux parties de thèse

Ce travail de thèse porte sur l'optimisation de la radiothérapie stéréotaxique par rayonnement synchrotron (RSRS) développée à Grenoble. Cette technique de radiothérapie innovatrice repose sur le principe de combiner la perfusion de tumeurs cérébrale, avec un agent de contraste ayant un numéro atomique élevé, puis de les irradier avec des rayons-X de basses énergies (typiquement de l'ordre de 80 keV). Cette combinaison a pour effet une augmentation locale de l'effet photoélectrique. Les avantages d'utiliser un faisceau monochromatique plutôt qu'un faisceau polychromatique d'un tube à rayons-X conventionnel a été démontré pour une meilleure protection des tissus sains ainsi que pour l'homogénéité de la distribution de dose dans la tumeur. Les futurs essais cliniques prévus au synchrotron de Grenoble nécessitent une optimisation au niveau des paramètres d'irradiation, des stratégies de plans de traitements pour obtenir une distribution de dose homogène dans la tumeur et protéger au mieux les tissus sains, c'est-à-dire le cerveau et l'os. Ceci correspond à la première partie de ce travail de thèse.

Un autre objectif de cette thèse est d'étudier la réponse biologique au traitement de sphéroïdes, modèles 3D de cellules cancéreuses. Cette approche permet de prendre en compte certaines propriétés morphologiques et fonctionnelles qu'ont en commun les sphéroïdes et les tumeurs. L'objectif principal de ce nouveau modèle, est d'étudier plus finement la diffusion de l'agent de contraste dans un milieu compact de cellules, maintenues par une matrice extracellulaire comme dans une tumeur. Le but est donc d'évaluer au niveau cellulaire l'efficacité de cette technique de radiothérapie pour une distribution d'iode s'approchant de celle obtenue *in vivo*.

L'influence de la distribution de l'élément lourd est étudiée dans la seconde partie de ce mémoire de thèse. L'agent de contraste restant dans le milieu extracellulaire, il se trouve à distance de la principale cible cellulaire : l'ADN. Il s'agit de relier les effets biologiques, obtenus *in vitro*, et l'augmentation de dose simulée avec un code Monte Carlo, dans une géométrie prenant en compte le fait que l'élément lourd reste dans l'espace extracellulaire des cellules. Cette approche dite "microdosimétrique" sera comparée aux calculs "macroscopiques" jusqu'alors faits en utilisant une concentration homogène en iode. Ceci permettra d'évaluer l'erreur que l'on effectue lorsque l'on ne tient pas compte de la bio-distribution de l'iode à l'échelle microscopique. La dernière question auquel nous essaierons de répondre, est : l'énergie optimale pour la RSRS est elle identique si l'on considère une distribution homogène de l'agent de contraste ou si l'on prend en compte la micro-bio-distribution de l'iode ?

Première partie

Optimisation de la radiothérapie stéréotaxique par rayonnement synchrotron : Étude paramétrique

Chapitre 3

État de l'art et problématique

Sommaire

3.1	État de l'art des simulations Monte Carlo de la radiothérapie stéréotaxique par rayonnement synchrotron	57
3.2	Radiosensibilité de l'os	61
3.3	Problématique	63

Nous présentons dans ce chapitre les principales études dosimétriques réalisées sur la radiothérapie stéréotaxique par rayonnement synchrotron (RSRS). Nous discuterons de la radiosensibilité de l'os et nous présenterons la problématique de la partie dosimétrique.

3.1 État de l'art des simulations Monte Carlo de la radiothérapie stéréotaxique par rayonnement synchrotron

Les différentes études dosimétriques réalisées jusqu'à présent, portent sur l'optimisation des paramètres d'irradiation mais aussi sur l'étude des caractéristiques particulières de la technique : distributions de doses, doses maximales, homogénéité et doses déposées dans l'os du crâne.

Paramètres d'irradiation, choix des *optimums* Caroline Boudou a montré pendant sa thèse, la faisabilité d'un point de vue dosimétrique de l'utilisation du faisceau synchrotron pour le traitement des tumeurs cérébrales chez l'homme. Des simulations Monte Carlo (code MCNPX) ont été réalisées à partir d'images scanner d'un patient porteur d'une tumeur fictive cylindrique de 2 cm de hauteur et 2 cm de diamètre [Boudou et al., 2005]. Le spectre en énergie (monochromatique ou polychromatique), l'énergie des photons du faisceau monochromatique et enfin la concentration en iode dans la tumeur ont été étudiées. Les principales conclusions sont présentées ci-dessous.

Il a été montré qu'utiliser un **faisceau monochromatique** plutôt que polychromatique permet de réduire la dose à l'os et de s'affranchir des problèmes de durcissement de faisceau dans la tumeur contenant de l'iode, qui apparaissent avec un faisceau polychromatique. Pour mémoire, le problème de durcissement du faisceau correspond au fait que l'énergie moyenne d'un spectre polychromatique évolue avec la pénétration dans les tissus (particulièrement dans la tumeur en présence d'éléments lourds), vers les hautes énergies. L'énergie moyenne augmentant avec la profondeur, les photons interagissent ainsi de moins en moins (diminution du coefficient d'atténuation). Utiliser un faisceau monochromatique représente donc une évolution de la technique, qui est favorable à la qualité du traitement.

Le choix de l'**énergie monochromatique** à utiliser résulte d'un compromis entre l'énergie optimale en terme d'augmentation de dose dans la tumeur et l'énergie optimale en terme de protection des organes à risques. Il a été trouvé que pour une tumeur contenant 10 mg/mL d'iode, l'énergie optimale en terme de facteur d'augmentation en dose est 50-60 keV. Pour la protection du tissu cérébral, l'énergie optimale se situe entre 50 et 64 keV. Pour l'os, plus l'énergie est élevée, plus le faisceau est pénétrant et limite ainsi la dose reçue. L'énergie optimale est donc supérieure ou égale à 60 keV, et dépend du compromis choisi.

La distribution de dose obtenue pour 5 mg/mL d'iode et une irradiation à 85 keV au niveau de la tumeur et des tissus sains est similaire à celle obtenue pour une irradiation à haute énergie (6 MV). En augmentant la **concentration en iode** dans la tumeur, les isodoses se resserrent autour de celle-ci. Avec des concentrations plus élevées, on diminue donc la dose au tissu cérébral ; ceci représente un avantage significatif de la technique.

Homogénéité de la distribution en dose Verhaegen *et al.* [Verhaegen et al., 2005] ont notamment considéré l'utilisation de faisceaux monochromatiques pour différents agents de contraste et concentrations, dans la partie dosimétrique de leur étude sur la

radiothérapie combinant des agents de contraste et des rayons-X. Des études ont été menées sur des fantômes et à partir d'images scanner d'un patient. La cible est placée au centre de rotation du faisceau et est irradiée en continue sur 360° . Cet article a permis notamment de souligner le problème d'hétérogénéité dans la distribution en dose de la tumeur avec cette technique de radiothérapie.

La première cause d'inhomogénéité est la forte absorption du faisceau dans la zone iodée qui est d'autant plus élevée que l'énergie des photons est basse. D'un point de vue paramétrique, il a été démontré que l'homogénéité peut être améliorée en utilisant des photons d'énergie la plus élevée possible (dans la gamme utile). Ce phénomène d'autoabsorption des photons dans la cible iodée réduit significativement l'homogénéité de la distribution en dose pour les concentrations élevées (de 50 à 300 mg/mL).

La deuxième cause d'inhomogénéité est la différence de distance entre l'entrée dans le patient et la cible suivant l'incidence des photons, conduisant à une différence d'atténuation. Une solution proposée pour limiter cette hétérogénéité est de moduler le débit de dose pendant l'irradiation effectuée en continue sur 360° et centrée sur la tumeur. La pondération du débit est fonction de $e^{-\mu l}$, avec l la distance parcourue par les photons de l'incidence considérée dans le fantôme pour atteindre le centre de la tumeur et μ est le coefficient d'atténuation dans l'eau à l'énergie considérée. Les résultats obtenus sont indiqués figure 3.1 .

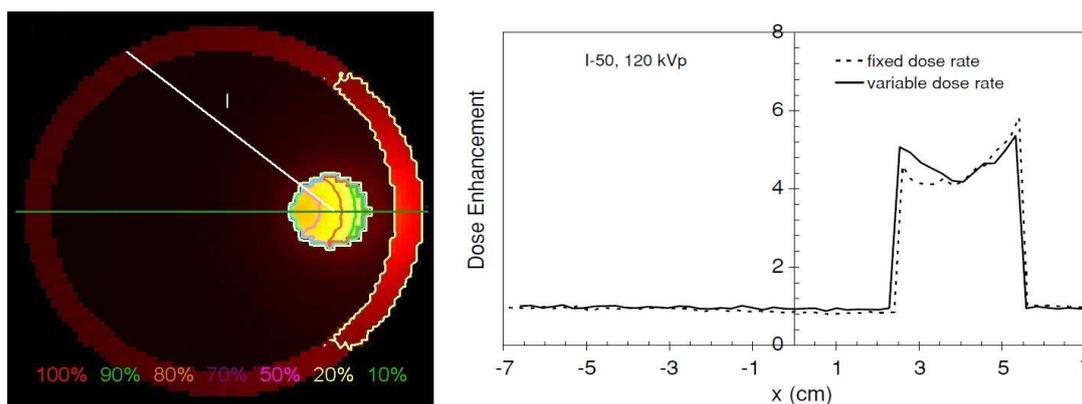


Figure 3.1 – Profils de dose obtenus dans le fantôme tête cylindrique pour une tumeur sphérique décalée de 4 cm vers la droite, pour une irradiation continue sur 360° . Le débit est constant ou pondéré pour compenser les différences d'atténuation des photons suivant leur incidence, d'après Verhaegen *et al.* [Verhaegen et al., 2005].

On peut voir que le principe de l'optimisation fonctionne et homogénéise la distribution en dose mais le phénomène d'autoabsorption persiste et laisse par conséquent une forte hétérogénéité dans la tumeur. Cependant, les concentrations utilisées dans cette étude sont beaucoup plus élevées que celles envisagées pour des essais cliniques (injection par voie intraveineuse de l'agent de contraste). Pour les essais cliniques l'approche proposée par Verhaegen *et al.* devrait donc suffire pour homogénéiser la distribution de dose. Si des concentrations en iode très élevées (> 20 mg/mL) étaient obtenues (après injection directe par exemple), il conviendrait de compenser l'autoabsorption de la cible iodée. Une modulation d'intensité ou de l'énergie du faisceau serait à étudier. L'approche de modulation en énergie du faisceau semble difficilement réalisable au synchrotron pour des raisons techniques (réglage des cristaux du monochromateur relativement lent) mais pourrait l'être avec d'autres sources de rayons-X quasi-monochromatiques, telles que celles développées par l'équipe de Jost *et al.* [Jost et al., 2008, Jost et al., 2009].

D’après les études précédentes, les distributions en dose obtenues prédisent une meilleure protection du tissu cérébral mais des doses élevées au niveau de l’os du crâne par rapport à la radiothérapie conventionnelle. Une étude a été réalisée par Prezado *et al.* [Prezado et al., 2009a] pour vérifier si les doses restent en dessous des tolérances et ne conduisent pas à des complications. Cette étude est détaillée dans les paragraphes suivants.

Protocole proposé pour les essais cliniques Pour les essais cliniques prévus au synchrotron, les irradiations seront réalisées à 80 keV (choix basé sur un compromis entre dose à la tumeur et protection des tissus sains). Elles seront centrées sur la tumeur et avec un nombre fini de faisceaux (au maximum 10) ajustés aux dimensions de la tumeur. L’irradiation au synchrotron correspondra à un “boost” qui sera suivi d’une irradiation cérébrale totale conventionnelle (6MV), une semaine plus tard, de 40 Gy à la tumeur.

6 phases d’incrémentations en doses sont proposées dans l’étude de Prezado *et al.* :

- (1) 10 Gy en une fraction
- (2) 12 Gy en une fraction
- (3) 14 Gy en une fraction
- (4) 18 Gy en trois fractions
- (5) 21 Gy en trois fractions
- (6) 24 Gy en quatre fractions.

L’organe particulièrement exposé avec cette technique étant l’os du crâne, Prezado *et al.* proposent notamment d’étudier pour les 6 schémas différents, les doses équivalentes biologiques dans l’os pour vérifier si l’on reste en dessous de la tolérance de celui-ci (tolérance : 60 Gy avec un fractionnement en dose standard, 2 Gy/fraction [Emami et al., 1991]).

Doses reçues par la tumeur et le crâne, doses équivalentes biologiques Pour pouvoir comparer les doses déposées à l’os et à la tumeur, Prezado *et al.* ont proposé de calculer pour les différentes phases, les BED (biological equivalent dose) et NTD (normalized totale dose).

Le **BED** correspond à la dose maximale pouvant être délivrée pour obtenir un effet biologique donné en fractionnant la dose. L’idée a été originellement suggérée par Barendsen *et al.* [Barendsen, 1982]. Le principe est que l’effet biologique (nommé E) est exprimé comme suit pour le modèle linéaire quadratique :

$$E = n(\alpha d + \beta d^2)$$

avec α et β les coefficient de radio-sensibilité des tissus, n le nombre de fractions et d la dose par fraction. La dose totale est donc $D = nd$. Le BED est la dose qu’il faut délivrer si l’on fait tendre la dose par fraction vers zéro, ce qui correspond au cas, où pour obtenir un effet donné on délivrera la dose totale la plus élevée.

Lorsque l’on fait tendre d vers zéro, on peut négliger le terme βd^2 , on a donc :

$$E = n\alpha d$$

d’où :

$$BED = D = nd = \frac{E}{\alpha}$$

ou encore,

$$BED = \frac{n(\alpha d + \beta d^2)}{\alpha} = D \left[1 + \frac{d}{\alpha/\beta} \right]. \quad (3.1)$$

Pour le schéma (1) proposé, soit 10 Gy en 1 fraction, le BED pour la tumeur vaut 20 Gy_{10} , l'indice indiquant la valeur du α/β utilisée (10 étant utilisé pour la tumeur et 1.8 pour l'os [Prezado et al., 2009a]). Cela veut dire que l'on peut utiliser "n'importe" quelle dose par fraction d , telle que $D = nd$ vérifie l'équation 3.1, pour obtenir l'effet biologique désiré (BED constant) mais que la dose totale maximale (D) délivrée à la tumeur sera 20 Gy_{10} (lorsque la dose par fraction tend vers zéro, cf figure 3.2).

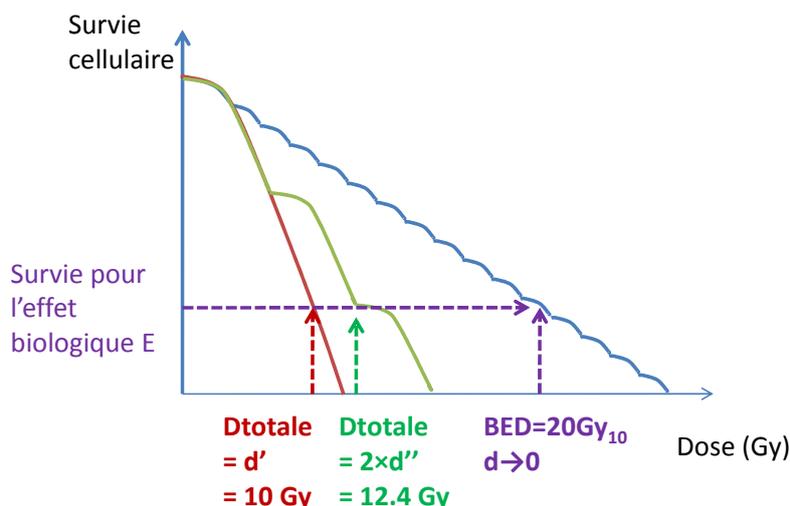


Figure 3.2 – Schéma explicatif du BED (biological equivalent dose) : le BED est la dose totale qu'il faut délivrer pour obtenir l'effet biologique souhaité lorsque l'on fait tendre la dose par fraction vers zéro. Différents schémas d'irradiation peuvent permettre d'obtenir le même effet biologique (et donc le même BED) mais avec des doses par fraction plus élevées, la dose totale délivrée sera toujours inférieure au BED. Pour cet exemple, le BED a été calculé pour une fraction de 10 Gy, l'indice du BED correspond au α/β utilisé (ici, pour la tumeur, $\alpha/\beta = 10$). L'illustration montre que l'on pourrait utiliser un autre schéma d'irradiation comme exemple, deux fractions de 6.2 Gy ($D_{Totale} = 12.4 \text{ Gy}$).

Les doses de tolérance étant définies pour des traitements de 2 Gy/fraction, on peut calculer la dose totale équivalente dans ce schéma d'irradiation (2 Gy/fraction), au traitement considéré (ici, 10 Gy en une fraction). Cette dose équivalente est appelée **NTD (Normalised Total Dose)** et se calcule comme suit :

$$NTD = BED / \left(1 + \frac{d}{\alpha/\beta} \right)$$

avec le BED calculé pour un schéma donné (n_1 et d_1 , ici, $n_1=1$ et $d_1=10 \text{ Gy}$) et d la dose par fraction du "nouveau" schéma (ici 2 Gy). L'équation précédente est obtenue en faisant l'égalité des BED pour les deux traitements :

$$BED_1 = D_1 \left(1 + \frac{d_1}{\alpha/\beta} \right) = D_2 \left(1 + \frac{d_2}{\alpha/\beta} \right) = BED_2.$$

Ainsi, l'irradiation de 10 Gy en une fraction ($BED = 20 \text{ Gy}_{10}$) est équivalente à une irradiation de 17 Gy en fraction de 2 Gy :

$$NTD_{2.0} = 20 / \left(1 + \frac{2}{10} \right) = 17 \text{ Gy}.$$

[I] (mg/ml)	D_{\max} (skull) (Gy)	$NTD_{2,0,\max}$ (skull) (Gy)	BED_{\max} (skull) (Gy _{1,8})
Phase 1: 10 Gy/1 frac.			
5	7.5 ± 0.1	18	39
8	6.9 ± 0.1	16	33
10	6.5 ± 0.1	14	30
Phase 2: 12 Gy/1 frac.			
5	9.0 ± 0.1	26	54
8	8.3 ± 0.1	22	46
10	7.8 ± 0.1	20	42
Phase 3: 14 Gy/1 frac.			
5	10.5 ± 0.1	34	72
8	9.7 ± 0.1	29	62
10	9.1 ± 0.1	26	55
Phase 4: 18 Gy/3 frac.			
5	13.5 ± 0.1	22	47
8	12.4 ± 0.1	19	41
10	11.7 ± 0.1	18	37
Phase 5: 21 Gy/3 frac.			
5	15.8 ± 0.1	29	62
8	14.5 ± 0.1	25	53
10	13.6 ± 0.1	23	48
Phase 6: 24 Gy/4 frac.			
5	18.0 ± 0.1	30	63
8	16.6 ± 0.1	26	55
10	15.6 ± 0.1	23	49

Figure 3.3 – Doses maximales reçues par l'os dans les différentes phases des essais cliniques, d'après Prezado *et al.* [Prezado et al., 2009a]. La première colonne renseigne sur la concentration en iode dans la tumeur, les suivantes montrent les doses physiques maximales, les NTD et les doses équivalentes biologique reçues par l'os.

L'indice du NTD indique quel fractionnement est utilisé.

En conclusion le schéma d'irradiation 10 Gy en une fraction revient à l'effet biologique que l'on aurait obtenu avec un schéma classique de fractions de 2 Gy et une dose totale de 17 Gy.

Les $NTD_{2,0}$ ont ainsi été calculés pour la tumeur et pour l'os pour les 6 schémas proposés et pour différentes concentrations en iode dans la tumeur (5, 8 et 10 mg/mL ; cf figure 3.3). Pour l'os, la dose maximale obtenue est 34 Gy ($NTD_{2,0}$) pour le cas où il y a 5 mg/mL d'iode dans la tumeur et une irradiation de 14 Gy délivrée en une fraction. Les doses restent donc en dessous des doses limites de tolérances. Cependant, il est important de préciser que la dose reçue par l'os pendant l'irradiation conventionnelle n'a pas été prise en compte dans cette étude.

Cette étude a permis de montrer qu'avec la RSRS, on peut augmenter la dose déposée dans la tumeur, tout en préservant l'os du crâne, et ceci quelle que soit la position de la tumeur.

3.2 Radiosensibilité de l'os

Chez l'adulte, peu d'études ont porté sur la radiosensibilité de l'os mature. Les lésions post-radiques peuvent se traduire soit par une fracture, soit par une nécrose provoquée par

de l'ostéoporose¹, une fibrose médullaire ou la cytotoxicité de l'irradiation sur les cellules. La gravité de ces lésions peut être augmentée par divers facteurs tels que la localisation de la tumeur (si elle atteint l'os) ou encore une infection associée.

L'os adulte est plus radiosensible que le cartilage car il contient une grande quantité de cellules osseuses et endothéliales. Une dose en une fraction de 20 Gy entraîne la mort des ostéoblastes, associée à une nécrose vasculaire (étude sur le bassin) [Habrand, 1988]. Différents auteurs insistent sur le rôle de la vascularisation vis-à-vis des nécroses radio-induites [Ewing, 1926]. Il a été souligné que les radiolésions osseuses sont la résultante de modifications vasculaires et de la cytotoxicité directe de l'irradiation sur les cellules osseuses [Duparc, 1988, Parker and Karon, 1989]. Cependant, le manque d'études anatomiques rend l'interprétation de ces remaniements osseux difficile.

Doses de tolérances chez l'adulte Le cartilage adulte contenant des cellules de faible activité métabolique, est relativement radiorésistant. Les cartilages intercostaux peuvent tolérer des doses de 55 Gy (irradiation de la chaîne mammaire interne). Les cartilages du larynx, du nez et de l'oreille tolèrent des doses de 65 à 70 Gy [Ramuz et al., 1997]. Emami *et al.* [Emami et al., 1991] ont publié des doses de tolérances pour les tissus sains. Ils détaillent les doses de tolérances pour obtenir 50% de complications à 5 ans (noté $TD_{50/5}$) et 5% de complications à 5 ans (noté $TD_{5/5}$) pour trois types d'os différents : la tête fémorale et humérale, la mandibule et la jonction mandibulaire ainsi que les côtes. Ces doses de tolérances sont :

- pour la tête fémorale et humérale : $TD_{50/5} = 65$ Gy, $TD_{5/5} = 52$ Gy,
- pour la mandibule et la jonction mandibulaire : $TD_{50/5} = 77$ Gy, $TD_{5/5} = 65$ Gy pour 1/3 du volume irradié
et $TD_{50/5} = 72$ Gy, $TD_{5/5} = 60$ Gy pour 2/3 du volume irradié,
- pour les côtes : $TD_{2/5} = 48$ Gy, $TD_{8/5} = 58$ Gy, $TD_{20/5} = 65$ Gy.

Il n'existe pas, à notre connaissance, de données spécifiques de doses de tolérances pour l'os du crâne. Cependant, l'os du crâne est de la famille des os dits plats comme le sternum, les côtes, la scapula, les os pariétaux. Les os plats sont composés de deux couches d'os compact, les tables externe et interne, enfermant une couche d'os spongieux. C'est pourquoi les doses de tolérances pouvant correspondre le plus à celles du crâne sont celles des côtes. Dans la publication de Prezado *et al.* [Prezado et al., 2009a], la dose de tolérance utilisée est 60 Gy ; cela semble raisonnable puisque $TD_{8/5} = 58$ Gy pour les côtes et que $TD_{8/5}$ est supérieure à $TD_{5/5}$ (dose de tolérance correspondant à 5 % de complications à 5 ans).

Irradiation chez l'enfant Une différence est à faire entre l'adulte et l'enfant. L'irradiation du tissu osseux peut provoquer une inhibition ou une perturbation de la croissance osseuse. Les principales complications survenant chez l'enfant sont des déformations osseuses liées à la combinaison irradiation et croissance de l'enfant. Ces déformations se traduisent principalement par l'apparition de scoliose, d'une épiphysiolyse² de la tête fémorale, d'une nécrose aseptique et des anomalies de la croissance craniofaciale. Le tissu osseux est un tissu à renouvellement lent, c'est-à-dire qu'il se multiplie peu ou pas pendant la radiothérapie. La cinétique très différente de la multiplication cellulaire chez l'enfant et chez l'adulte explique la grande différence entre l'effet d'irradiation suivant l'âge du patient. Des observations cliniques ont montré un retard plus sévère de croissance lorsque la dose dépassait 24-30 Gy [Sonis et al., 1990, Wilimas et al., 1980].

1. maladie caractérisée par une fragilité excessive du squelette, due à une diminution de la masse osseuse et à l'altération de la microarchitecture osseuse.

2. Destruction de l'extrémité d'un os.

L'irradiation de l'os de l'enfant est donc plus délicate que celui de l'adulte et nécessite plus de précautions. Par exemple, si une portion d'un cartilage de conjugaison doit être traitée, il faut irradier la totalité du cartilage et surtout ne pas partager le cartilage dans le sens longitudinal, car les gradients de doses induiront de sévères déformations en raison des différences de vitesse de croissance d'un côté et de l'autre. C'est particulièrement le cas pour l'irradiation d'une portion du corps vertébral qui peut conduire à une scoliose sévère.

3.3 Problématique

Historiquement, la radiothérapie basée sur l'augmentation de l'effet photoélectrique au niveau de la tumeur perfusée en agent de contraste a été développée avec un scanner dédié [Mello et al., 1983, Mesa et al., 1999, Norman et al., 1978a, Norman et al., 1997, Norman et al., 1978b, Solberg et al., 1992]. Les avantages et inconvénients de cette technique ont rapidement été explicités. Les avantages sont la protection du tissu cérébral et l'amélioration du gradient de dose autour de la tumeur. Les inconvénients sont :

- la difficulté d'obtenir une distribution en iode homogène et une concentration suffisamment élevée pour obtenir une augmentation de dose significative et constante pendant un laps de temps suffisamment long vis-à-vis de la durée du traitement,
- la forte absorption de l'os.

Il a été proposé par Solberg *et al.* [Solberg et al., 1992] d'utiliser un faisceau monochromatique pour améliorer les résultats en termes de facteur d'augmentation de dose dans la tumeur et de protection de l'os. Le développement de la technique de radiothérapie a alors été transféré vers un faisceau monochromatique que l'on peut obtenir avec un synchrotron. Différentes études dosimétriques ont montré la faisabilité de la technique au synchrotron [Boudou et al., 2005]. Elles ont souligné les problèmes d'homogénéité de la distribution de dose dans la tumeur (même en considérant une concentration en iode homogène dans la tumeur) [Verhaegen et al., 2005] et ont décrit les doses qu'il est possible de prescrire pour les futurs essais cliniques tout en préservant les tissus sains [Prezado et al., 2009a].

Dans cette partie, nous avons poursuivi l'étude dosimétrique de la radiothérapie stéréotaxique par rayonnement synchrotron. Nous avons déterminé les paramètres optimaux d'irradiation et d'agent de contraste et développé une méthode d'optimisation pour homogénéiser la distribution de dose dans la tumeur dans les conditions prévues pour les futurs essais cliniques. Nous avons utilisé, pour l'étude paramétrique et développement de la méthode d'optimisation, un fantôme tête décrit analytiquement (superposition d'ellipsoïdes). Puis, nous avons testé l'optimisation dans un cas réel, sur des images scanner d'un patient porteur d'une métastase cérébrale.

Chapitre 4

Étude paramétrique et d'optimisation de la radiothérapie stéréotaxique par rayonnement synchrotron

Sommaire

4.1	Matériels & méthodes	67
4.1.1	Paramètres de simulations	67
4.1.2	Géométries	67
4.2	Facteurs d'augmentation de dose dans la tumeur et protection des tissus sains	70
4.2.1	Augmentation de dose en fonction de la qualité du faisceau et de l'élément lourd	70
4.2.2	Augmentation de dose en fonction de la concentration en éléments lourds et de l'énergie des photons	72
4.2.3	Protection des tissus sains	72
4.3	Distribution de dose en fonction de la qualité du faisceau	75
4.4	Spectres photoniques à différentes positions dans le fantôme analytique	76
4.5	Distribution de dose en fonction de la géométrie d'irradiation	77
4.6	Utilisation de marges	79
4.7	Optimisation de la distribution de dose par pondération des faisceaux	80
4.7.1	Homogénéité de la dose en fonction de la position de la tumeur	80
4.7.2	Explication illustrée de la pondération des faisceaux	81
4.7.3	Évaluation de la méthodologie d'optimisation sur le fantôme tête	82
4.7.4	Évaluation de la méthodologie d'optimisation sur les données réalistes	87
4.7.5	Discussion	90
4.7.6	Conclusion	90

Nous présentons dans ce chapitre les résultats ayant fait l’objet d’une publication (cf annexe) dans la revue internationale à comité de lecture “Medical Physics” ainsi que des compléments d’explications et quelques résultats supplémentaires.

Le but de cette étude est de trouver les paramètres optimaux d’irradiation en termes d’augmentation de dose dans la tumeur due à l’élément lourd et de protection des tissus sains. Les paramètres sont l’élément lourd utilisé, l’énergie du faisceau, la géométrie d’irradiation et les marges pour assurer une bonne homogénéité de la dose dans la tumeur. Une méthodologie est proposée pour homogénéiser la dose dans la cible pour tout type de localisation de la tumeur. Elle consiste à compenser les différences d’atténuation suivant le parcours des photons dans la tête du patient pour chaque incidence.

4.1 Matériels & méthodes

4.1.1 Paramètres de simulations

Toutes les simulations ont été réalisées avec le code Monte Carlo MCNPX v2.6.0 (Los Alamos National Laboratory, NM). Nous avons utilisé, pour l’étude paramétrique et d’optimisation, la méthode de calcul “*tally* F6” qui permet de réduire les temps de calcul par rapport au *tally* “*F8” qui correspond au calcul Monte Carlo pur. Le calcul du *tally* F6 est basé sur le flux des photons dans le volume considéré et la probabilité qu’ils y interagissent et déposent de l’énergie. Il est estimé à partir de la longueur du chemin parcouru par la particule (photon ou électron) dans le volume considéré et de sa section efficace totale d’interaction. Le *tally* F6 donne l’énergie déposée divisée par la masse du volume considéré (en MeV/g), tandis que le *tally* *F8 indique l’énergie déposée en MeV. Pour comparer les deux *tallies*, il suffit de diviser le *tally* *F8 par la masse du volume de mesure. La dose déposée avec les deux méthodes est estimée différemment et peut conduire à des différences dans les résultats. Il est donc important de valider l’utilisation du *tally* F6 dans la géométrie utilisée avec le *tally* *F8. Ceci a été réalisé pour cette étude.

Pour chaque cas, nous avons simulé 10^8 photons permettant d’obtenir une incertitude relative inférieure à 0.3% dans le fantôme tête et inférieure à 6% pour les simulations sur des données réalistes provenant d’un patient porteur d’une métastase.

La dose prescrite est la dose moyenne déposée au centre de la tumeur dans une ROI de 2×2 voxels .

4.1.2 Géométries

Deux géométries ont été utilisées dans notre étude : le fantôme tête et la géométrie issue des données scanner d’un patient.

4.1.2.1 Le fantôme tête

Ce modèle analytique provient d’un modèle de cerveau adulte décrit par Bouchet *et al.* [Bouchet et al., 1996] et adapté pour les études en médecine nucléaire utilisant le formalisme du MIRD (Medical Internal Radiation Dose). Ce type de modèle a aussi été utilisé dans des études sur la thérapie par capture électronique [Harling et al., 1995] et dans une étude sur les doses équivalentes biologiques en RSRS [Prezado et al., 2009a].

La géométrie (figure 4.1) est décrite par 3 ellipsoïdes d’équations :

$$\text{Cerveau} : \left(\frac{x}{6}\right)^2 + \left(\frac{y}{9}\right)^2 + \left(\frac{z}{6.5}\right)^2 \leq 1$$

$$Os : \left(\frac{x}{7}\right)^2 + \left(\frac{y}{10}\right)^2 + \left(\frac{z}{8.5}\right)^2 \leq 1 \text{ et } > \text{Cerveau}$$

$$Peau : \left(\frac{x}{7.2}\right)^2 + \left(\frac{y}{10.2}\right)^2 + \left(\frac{z+1}{8.7}\right)^2 \leq 1 \text{ et } > Os$$

La tumeur est modélisée par un cylindre de 2 cm de diamètre et 2 cm de hauteur contenant un milieu homogène composé de tissu cérébral et d'une certaine concentration en élément lourd (iode, or ou gadolinium). La tumeur peut être centrée ou décentrée de 4 cm dans la direction du petit axe (cf figure 4.1). Toutes les compositions des tissus et densités proviennent du rapport de l'ICRU¹ n°46 [report ICRU 46, 1992].

La géométrie a été générée analytiquement puis voxelisée suivant les besoins avec des voxels cubiques de 1 mm³. Deux types de voxelisation ont été utilisés : la voxelisation entière du fantôme qui conduit à une matrice de 200 × 220 × 200 voxels et la voxelisation partielle, uniquement dans la coupe centrale axiale conduisant à une matrice de 200 × 220 voxels. Pour certaines études paramétriques, l'information en 2D suffit, nous parlerons alors d'histogramme dose-volume² (DVH) surfacique. Cela correspondra au DVH calculé uniquement dans la coupe centrale axiale. Pour le DVH volumique, 100% de l'os et du cerveau correspond aux voxels présents dans le volume compris entre ±4.5 cm suivant z de part et d'autre du centre de la tumeur ; 100% de la tumeur correspond au volume complet de celle-ci.

Le faisceau utilisé est un parallélépipède de section égale à la projection de la tumeur, soit 2 × 2 cm² avec des marges optionnelles (de 0-5 mm). La source est positionnée sur un cercle centré sur la tumeur, de 18 cm de rayon pour assurer sa localisation à l'extérieur du fantôme. L'irradiation est simulée avec un nombre fini de faisceaux distribués régulièrement autour de la tumeur ou en continue sur 360° (infinité de faisceaux), on parle de mode tomographique ou d'arthérapie dynamique.

4.1.2.2 La géométrie réaliste

Cette géométrie provient d'images scanner-X d'un patient porteur d'une métastase cérébrale. Ces images ont été acquises après injection de 60 mL en 2 min d'un agent de contraste à 300 mg/mL d'iode (Xénétix, Laboratoire Guerbet, France). Un contourage automatique et manuel des organes et tissus d'intérêt a été réalisé avec le logiciel ISOgray (Dosisoft, Cachan, France). Ce contourage est basé sur des seuils appliqués aux unités Hounsfield (UH) des images scanner (par exemple, 15-60 UH pour le cerveau, 85-105 UH pour la tumeur, 15-30 UH pour les yeux et 500-1300 UH pour l'os) ainsi que sur des critères anatomiques pour notamment différencier les yeux du cerveau dont une partie des UH sont communes. Après cette délimitation, les données sont transférées sur le logiciel Oedipe [Chiavassa et al., 2005, Chiavassa et al., 2006] pour effectuer la voxelisation ainsi que l'encodage dans le langage condensé de MCNPX. Les organes contourés sont : le cerveau, les yeux, l'os, la tumeur, la peau et les cavités d'air (cf figure 4.2). La géométrie finale est une matrice de 128 × 128 × 87 voxels de 0.165 × 0.165 × 0.148 cm³ chacun.

Les matériaux associés aux structures proviennent de ICRU 46 [report ICRU 46, 1992] excepté pour l'oeil qui est assimilé à de l'eau. Pour les simulations, la concentration en iode dans la tumeur est redéfinie et ne provient pas de celle obtenue sur les images scanner. Celle-ci est en effet trop faible car le protocole d'injection de l'agent de contraste n'avait

1. International Commission on Radiation Units and Measurements

2. Représentation graphique indiquant quel pourcentage volumique d'un organe donné reçoit quel pourcentage de la dose prescrite à la tumeur.

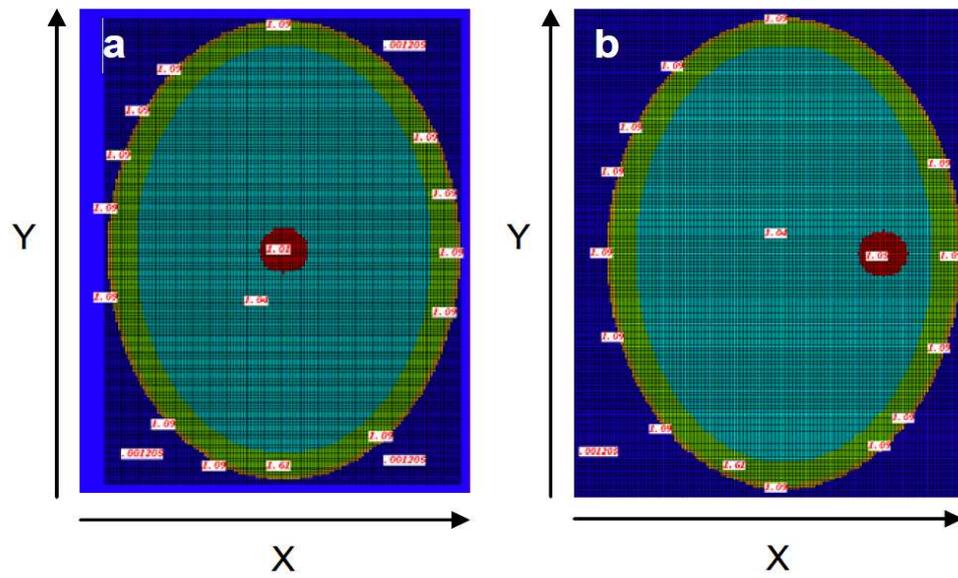


Figure 4.1 – Coupes axiales du fantôme tête avec une tumeur (rouge) (a) centrée ou (b) décentrée de 4 cm. L'air apparaît en bleu foncé, la peau en jaune, l'os en vert et le cerveau en turquoise.

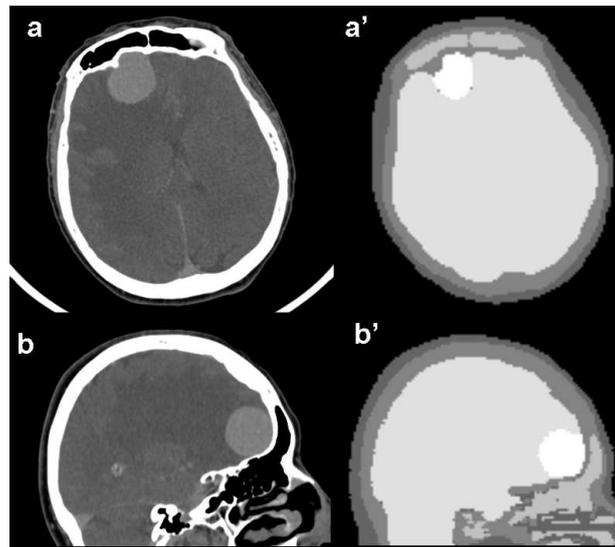


Figure 4.2 – Coupes scanner-X (a) axiale, (b) sagittale d'un patient porteur d'une métastase cérébrale. Coupes de la géométrie MCNPX correspondante (a') axiale et (b') sagittale.

pas été optimisé pour ce patient dans un but thérapeutique. Nous avons donc augmenté la concentration initiale dans la tumeur d'environ 3 mg/mL à 10 mg/mL.

Dans cette géométrie, nous avons utilisé un faisceau de section circulaire qui correspond à la forme de la tumeur. Le rayon de celui-ci a été choisi de telle sorte que tout autour de la tumeur et pour n'importe quelle incidence, il y ait une marge d'au moins 3 mm. Ce rayon est 1.8 cm.

4.2 Facteurs d'augmentation de dose dans la tumeur et protection des tissus sains

Le facteur d'augmentation en dose (FAD ou DEF pour Dose enhancement factor) est défini comme le rapport entre la dose déposée dans la tumeur en présence d'éléments lourds sur la dose déposée dans la tumeur sans agent de contraste :

$$DEF = \frac{Dose_{TUMEUR}, [I] > 0}{Dose_{TUMEUR}, [I] = 0}$$

avec $Dose_{TUMEUR}$, la dose déposée dans la tumeur et $[I]$ la concentration en iode (ou en éléments lourds) dans la tumeur.

Le DEF a été calculé en fonction de :

- la qualité du faisceau
- l'élément lourd dans la tumeur
- la concentration en élément lourd
- la position de la tumeur (centrée ou excentrée)
- la géométrie d'irradiation (mode tomographique ou nombre fini de faisceaux, sur 1 ou 3 plans non-coplanaires).

4.2.1 Augmentation de dose en fonction de la qualité du faisceau et de l'élément lourd

Nous avons ici comparé les DEF obtenus pour des faisceaux polychromatiques (80 kVp, 120 kVp, 180 kVp et 6 MV) aux DEF obtenus avec des faisceaux monochromatiques d'énergies 37, 43, 58 keV et 1.66 MeV, énergies correspondant aux énergies effectives des faisceaux polychromatiques. Le DEF a également été calculé pour un faisceau de 80 keV (cf tableau 4.1, figure 4.3).

Le DEF maximum, pour chaque élément, n'est pas obtenu juste au dessus de son seuil K. Le DEF maximum se situe à l'énergie pour laquelle la différence entre l'absorption des photons dans l'élément lourd et l'eau est maximale. Nous avons obtenu les DEF maximum à 50-60 keV, 60-70 keV et 40-50 keV pour l'iode, le gadolinium et l'or respectivement. Pour comparaison, l'énergie du seuil K est 33.17 keV pour l'iode, 50.2 keV pour le gadolinium et 80.2 keV pour l'or.

Les faisceaux polychromatiques obtenus avec des tubes à rayons-X (80, 120 et 180 kVp) ont aussi générés des DEF importants (> 1.70), par contre le LINAC (6 MV) a conduit à un DEF négligeable (1.01) quel que soit l'élément considéré. En faisceau polychromatique, le DEF maximal est obtenu avec le faisceau 80 kVp pour l'iode et l'or.

Des DEF comparables (de 1.96 à 2.35) ont été obtenus pour les trois éléments entre 50 et 90 keV. L'iode et le gadolinium ont été étudiés car ce sont deux agents de contraste que l'on peut injecter par voie intraveineuse et avec lesquels on peut atteindre des concentrations significatives dans les tumeurs cérébrales vascularisées. Nous nous sommes intéressés à l'or pour les nanoparticules d'or qui ont donné des résultats précliniques in-

Qualité du faisceau	37 keV	43 keV	58 keV	80 keV	1.66 MeV
DEF pour de l'iode	1.93	2.23	2.37	1.96	1.01
DEF pour du gadolinium	1.69	1.71	2.27	2.14	1.01
DEF pour de l'or	2.23	2.30	2.15	1.71 (1.97 à 80.3 keV)	1.01

(a) Faisceaux monochromatiques

Qualité du faisceau	80 kVp	120 kVp	180 kVp	6 MV
	2mm Al	2mm Al	0.2mm Cu	
Énergie effective	37 keV	43 keV	58 keV	1.66 MeV
DEF pour de l'iode	2.18	2.10	1.87	1.01
DEF pour du gadolinium	1.94	2.01	1.88	1.01
DEF pour de l'or	2.17	2.07	1.90	1.01

(b) Faisceaux polychromatiques

Tableau 4.1 – Facteurs d'augmentation en dose calculés pour 10 mg/mL d'iode, gadolinium ou or dans la tumeur centrée pour différentes qualités de faisceaux, (a) faisceaux monochromatiques et (b) faisceaux polychromatiques. Les énergies effectives ont été déterminées de telle manière que le faisceau monochromatique et le faisceau polychromatique aient la même épaisseur de demi-atténuation dans l'aluminium.

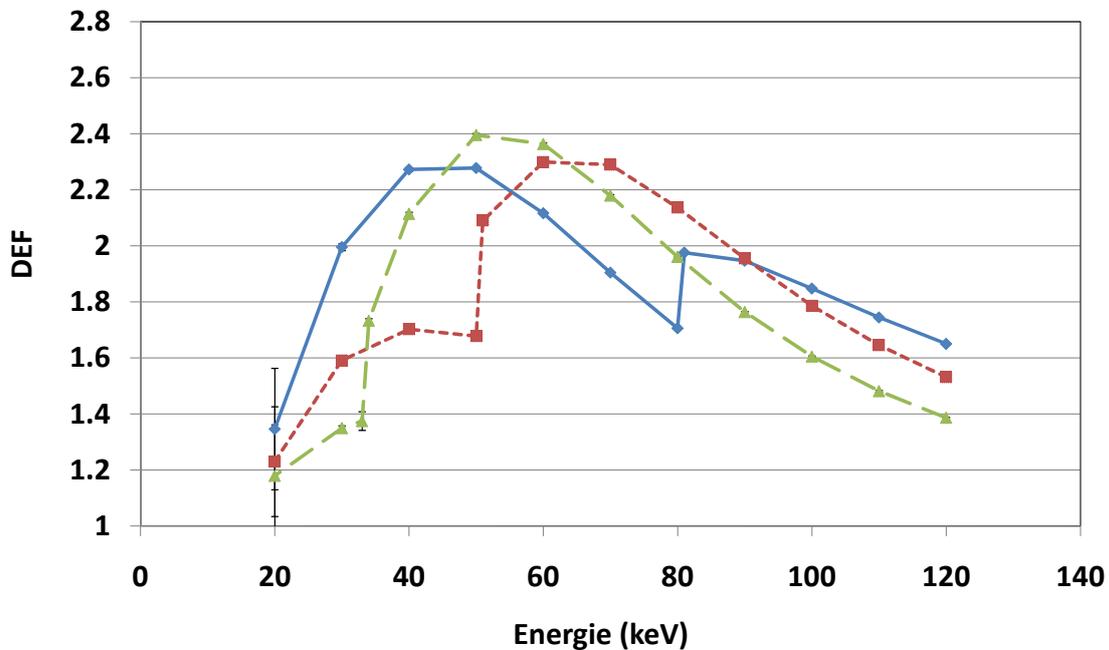


Figure 4.3 – Facteur d'augmentation en dose en fonction de l'énergie des photons pour une tumeur centrée et contenant 10 mg/mL d'iode (vert), gadolinium (rouge) ou or (bleu).

téressants pour le traitement d’un modèle de gliome implanté dans la patte de souris [Hainfeld et al., 2008].

Les augmentations de dose obtenues dans cette étude (2.35 à 50 keV) sont légèrement inférieures à celles calculées théoriquement avec les rapports des coefficients d’absorption massiques [Solberg et al., 1992, Adam et al., 2005] ou avec les rendements en profondeurs [Manolopoulos et al., 2009] (~ 2.5 à 50 keV). Ceci peut s’expliquer par les différences au niveau des spectres photoniques qui atteignent la cible. Dans un fantôme tête, les faibles énergies dues aux interactions Compton sont plus nombreuses.

Le DEF obtenu avec un LINAC est négligeable (1.01) et correspond à celui trouvé par Robar *et al.* [Robar, 2006] ou mesuré expérimentalement avec des gels polymères dopés avec de l’iode (cf thèse C. Boudou [Boudou, 2006] et Gastaldo *et al.* [Gastaldo et al., 2008]).

4.2.2 Augmentation de dose en fonction de la concentration en éléments lourds et de l’énergie des photons

Les facteurs d’augmentation en dose pour différents éléments lourds (iode, gadolinium et or) et concentrations (de 0 à 40 mg/mL) ont été calculés dans le fantôme tête (analytique) pour une tumeur centrée (cf figure 4.4). L’augmentation en dose en fonction de la concentration est linéaire jusqu’à environ 15 mg/mL d’iode puis “sature” à cause de l’auto-absorption des rayons-X dans la tumeur chargée en élément lourd. On peut remarquer aussi qu’à 80 keV, il pourrait être plus intéressant de travailler avec un agent de contraste contenant du gadolinium que de l’iode puisque le DEF du gadolinium est légèrement supérieur à celui de l’iode (2.1 *versus* 2.0 pour 10 mg/mL d’agent de contraste et 3.2 *versus* 2.9 pour 20 mg/mL). Cependant les concentrations des agents à base de gadolinium sont beaucoup plus faibles (maximum 150 mg/mL) que celles des agents de contraste iodés (maximum 400 mg/mL), ce qui rend difficile l’obtention de concentrations aussi élevées avec du gadolinium qu’avec l’iode dans une tumeur après injection systémique.

En ce qui concerne l’iode, le DEF maximal est obtenu à 50 keV. Cependant, le choix de l’énergie optimale nécessite d’étudier non seulement les facteurs d’augmentation de dose mais aussi d’évaluer en détail la distribution de la dose dans les tissus sains en fonction de l’énergie choisie.

4.2.3 Protection des tissus sains

Pour évaluer les doses déposées aux tissus sains, nous avons calculé le rapport entre la dose moyenne déposée dans l’organe considéré et la dose déposée dans la tumeur. On cherche donc à obtenir le rapport le plus faible possible. Les résultats présentés dans cette section ont été obtenus dans le fantôme tête (analytique) avec une tumeur centrée et pour différentes énergies de photons. Les résultats obtenus sont présentés figure 4.5. Ils concordent avec ceux obtenus par Caroline Boudou [Boudou et al., 2005], c’est-à-dire que l’optimum en terme de protection du tissu cérébral se situe entre 50 et 70 keV pour l’iode et que pour l’os, plus l’énergie utilisée est élevée meilleure sera sa protection. Pour le gadolinium, l’optimum se situe entre 60 et 80 keV et pour l’or, deux optimums apparaissent : entre 50 et 60 keV et entre 80 et 90 keV pour la protection du tissu cérébral. Pour l’os, quel que soit l’élément lourd utilisé, sa protection sera d’autant meilleure que l’énergie des photons utilisés sera élevée.

Le DVH (Dose Volume Histogram) surfacique (dose déposée dans la coupe centrale axiale) comparant une irradiation continue pour une tumeur centrée dans le fantôme tête à 50 et 80 keV est indiqué figure 4.6. Ce DVH permet de visualiser les différences de doses

déposées dans le cerveau et l'os pour une même dose prescrite à la tumeur chargée avec 10 mg/mL d'iode (100% au centre de la tumeur). On peut voir qu'augmenter l'énergie de 50 à 80 keV ne permet pas de diminuer la dose au cerveau mais par contre permet de passer de 40 à 20 % de la dose prescrite déposée dans 100% de l'os présent dans la coupe centrale. Les doses maximales déposées dans l'os sont 68 et 34% à 50 et 80 keV respectivement. Il est donc préférable d'irradier la tumeur à 80 keV plutôt qu'à 50 keV puisque l'on diminue la dose à l'os d'un facteur 2 tandis que DEF diminue de 2.4 à 1.9 mais reste significatif.

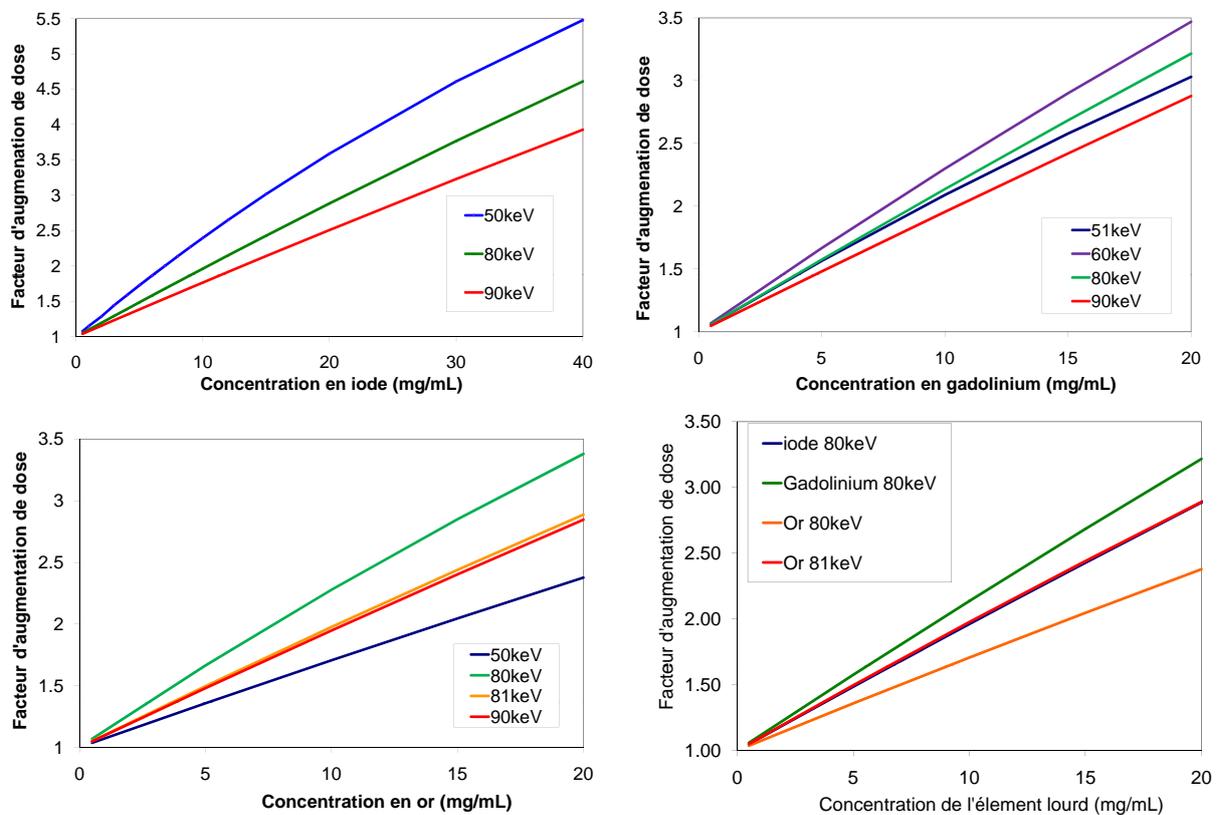


Figure 4.4 – Facteurs d'augmentation en dose en fonction de la concentration de l'élément lourd dans la tumeur. Les énergies étudiées sont égales ou supérieures à 50 keV (l'énergie optimale pour l'iode et l'or est 50 keV, elle est de 60 ou 70 keV pour le gadolinium). Pour le gadolinium et l'or une énergie supplémentaire est étudiée autour de leur seuil K respectif (50.2 keV et 80.7 keV).

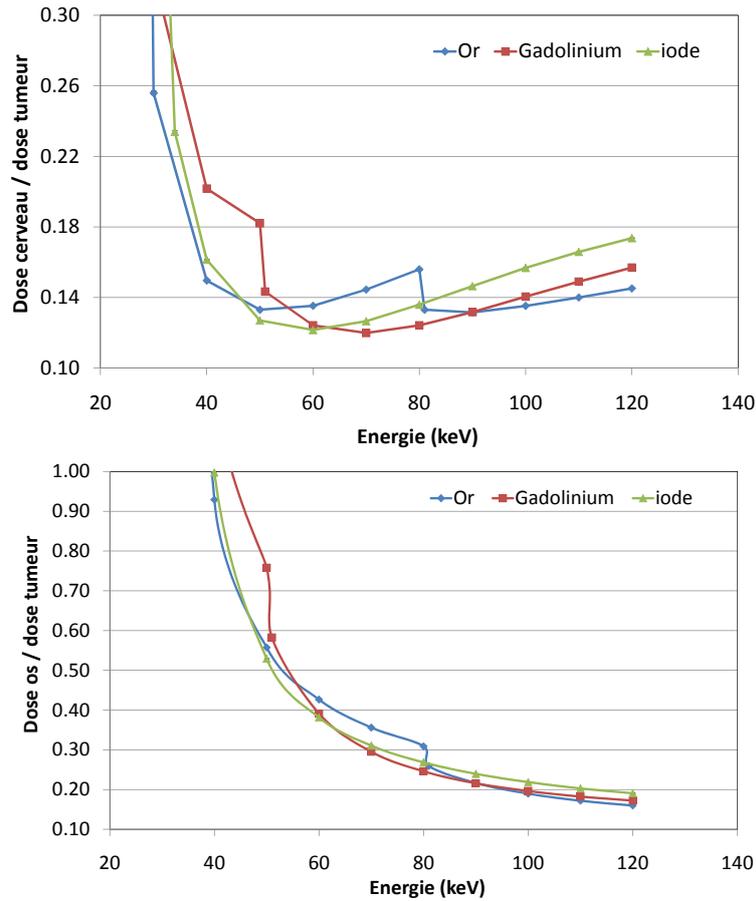


Figure 4.5 – Doses moyennes déposées dans le cerveau ou l'os du crâne par rapport à celle déposée dans la tumeur en fonction de l'énergie des photons incidents. Les simulations ont été faites dans le fantôme tête avec une tumeur centrée contenant 10 mg/mL d'iode, de gadolinium ou d'or.

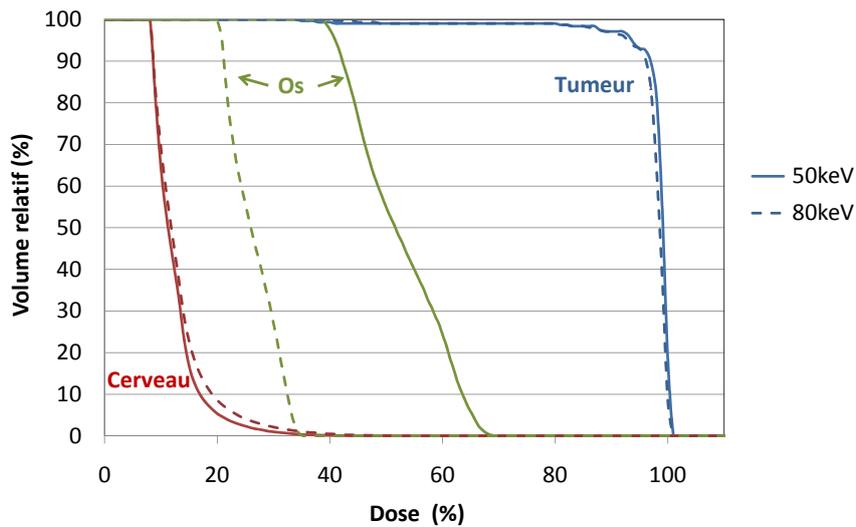


Figure 4.6 – Histogramme Dose Volume (DVH) comparant la distribution de dose dans la tumeur (en bleu), l'os (en vert) et le cerveau (en rouge) pour une irradiation continue, en mode tomographique, à 50 keV (traits pleins) et 80 keV (tirets), dans le fantôme tête pour une tumeur centrée contenant 10 mg/mL d'iode.

4.3 Distribution de dose en fonction de la qualité du faisceau

Les profils de dose suivant l'axe x ont été étudiés pour différentes qualités de faisceaux (polychromatiques et monochromatiques) en considérant 10 mg/mL d'iode dans la tumeur centrée dans la fantôme tête (cf figure 4.1). Ces profils sont normalisés au centre de la tumeur. Nous étudierons particulièrement les gradients de dose en périphérie de la tumeur ainsi que les doses déposées dans l'os du crâne. La figure 4.7 montre la distribution de dose obtenue pour une irradiation à 80 keV (mode tomographique) et les profils latéraux obtenus avec un faisceau monochromatique de 80 keV ainsi que des faisceaux polychromatiques de 80 kVp, 120 kVp, 180 kVp et 6 MV.

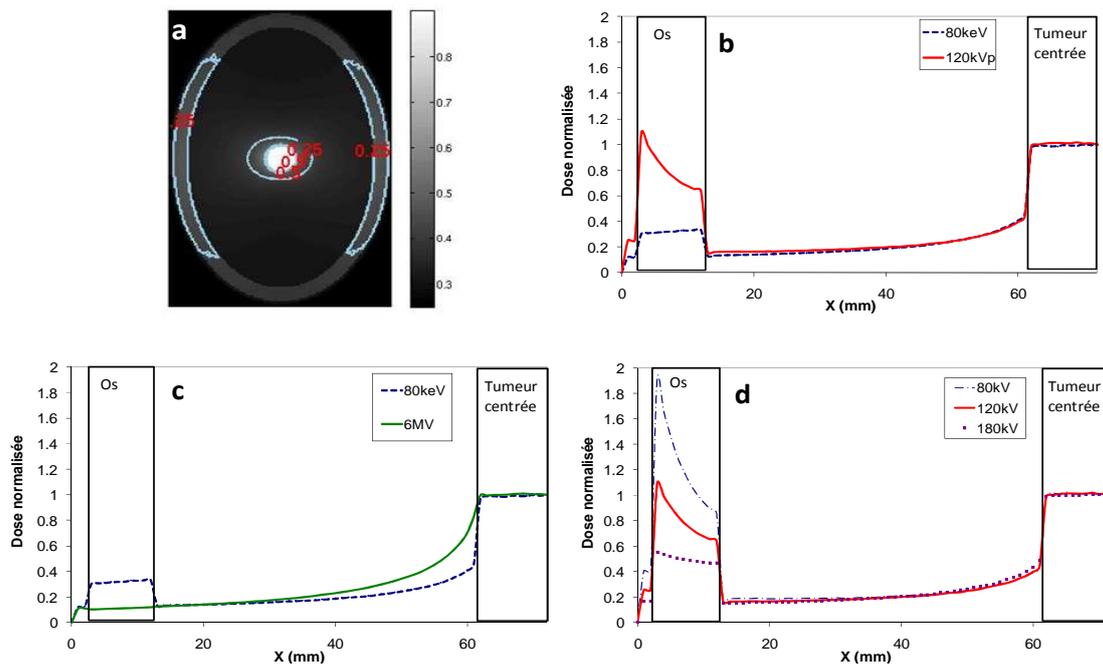


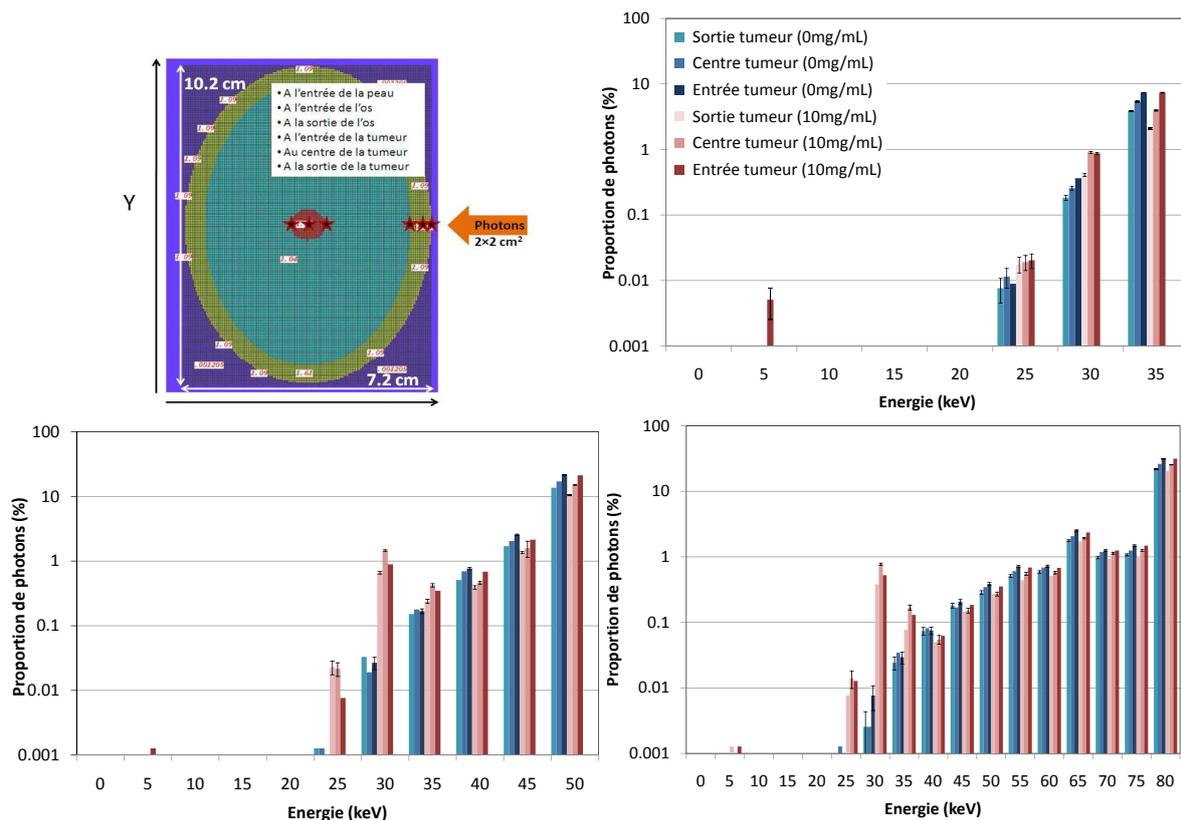
Figure 4.7 – (a) Distribution de dose relative obtenue dans le fantôme analytique, pour un tumeur centrée contenant 10 mg/mL d'iode et une irradiation à 80 keV en mode tomographique. Les isodoses de 25, 50 et 90% sont tracées (les isodoses de 50 et 90% se superposent). (b)-(d) Profils latéraux normalisés au centre de la tumeur obtenus pour une irradiation en mode tomographique (b) compare les profils obtenus pour une irradiation à 80 keV et un faisceau polychromatique de 120 kVp, (c) compare 80 keV et 6 MV et (d) compare différents faisceaux polychromatiques : 80, 120 et 180 kVp.

L'avantage principal d'utiliser un faisceau monochromatique par rapport à un faisceau polychromatique est de réduire la dose délivrée à l'os. Ceci s'explique par le fait que les faisceaux polychromatique contiennent une proportion significative de photons de basses énergies. Pour un faisceau de 80 keV, environ 33% de la dose prescrite est déposée dans l'os du crâne, comparé à 190, 110 et 53% pour les faisceaux polychromatiques de 80, 120 et 180 kVp respectivement. Avec un faisceau de 6 MV, la dose déposée dans l'os est inférieure à 15% de la dose prescrite (pour la même géométrie d'irradiation). Cependant, avec un LINAC (6 MV), la dose délivrée au tissu cérébral sain est plus élevée comparée aux faisceaux de basses énergies (monochromatiques et polychromatiques). Une différence entre 25 et 50% est obtenue à proximité de la tumeur. La dose limite pour l'os est 60 Gy, tandis que celle pour le tissu cérébral est comprise entre 45 et 60 Gy suivant la taille et la localisation du volume irradié [Emami et al., 1991]. Ce gain en dose dans le tissu

cérébral sain pourrait permettre de d'augmenter la dose dans la tumeur et atteindre ainsi des doses curatives. La dose dans l'os reste en dessous des tolérances pour un faisceau de 80 keV et des doses proposées pour les essais cliniques [Prezado et al., 2009a]. Il est aussi intéressant de diminuer la dose au cerveau pour les réirradiations qui seraient intéressante pour le traitement des tumeurs cérébrales pour lesquelles la probabilité de récurrence est maximale.

4.4 Spectres photoniques à différentes positions dans le fantôme analytique

Les spectres photoniques obtenus dans le fantôme tête en différents points pour des faisceaux de 34, 50 et 80 keV sont représentés figure 4.8. L'irradiation est ici réalisée avec un faisceau de section $2 \times 2 \text{ cm}^2$ et une seule incidence selon l'axe x . Le tableau 4.2 indique les pourcentages des photons incidents atteignant la tumeur, son centre et en sortant pour 0 ou 10 mg/mL d'iode dans la tumeur. On peut remarquer que 5%, 17% et 26% des photons atteignent le centre de la tumeur pour des photons incidents de 34, 50 et 80 keV respectivement. Pour le spectre obtenu à 80 keV, 61% des photons sont atténués par l'os. Ceci montre l'importance de travailler avec des photons d'énergie suffisamment haute pour que la proportion de photons atteignant la tumeur soit la plus grande possible.



	34 keV		50 keV		80 keV	
	0 mg/mL	10 mg/mL	0 mg/mL	10 mg/mL	0 mg/mL	10 mg/mL
Entrée tumeur	7%	7%	21%	21%	32%	32%
Centre tumeur	5%	4%	17%	15%	26%	25%
Sortie tumeur	4%	2%	14%	11%	22%	20%

Tableau 4.2 – Pourcentages de photons incidents ou diffusés d'énergie jusqu'à 5 keV inférieure aux photons incidents (par exemple, photons de 75 à 80 keV pour le faisceau de 80 keV) à l'entrée, au centre et à la sortie de la tumeur contenant ou non 10 mg/mL d'iode pour des photons incidents de 34, 50 et 80 keV.

4.5 Distribution de dose en fonction de la géométrie d'irradiation

Nous avons étudié trois géométries d'irradiation (cf illustration 4.9) :

- une irradiation en mode tomographique (sur 360°) qui correspond à celle utilisée dans de nombreuses études préalables [Boudou et al., 2005, Mesa et al., 1999]
- une irradiation avec un nombre fini de faisceaux équi-répartis (10), géométrie retenue pour les essais cliniques de l'ESRF
- une irradiation sur 3 trois plans non-coplanaires, désaxés de $\pm 20^\circ$ par rapport au plan XY [Mesa et al., 1999, Boudou et al., 2005].

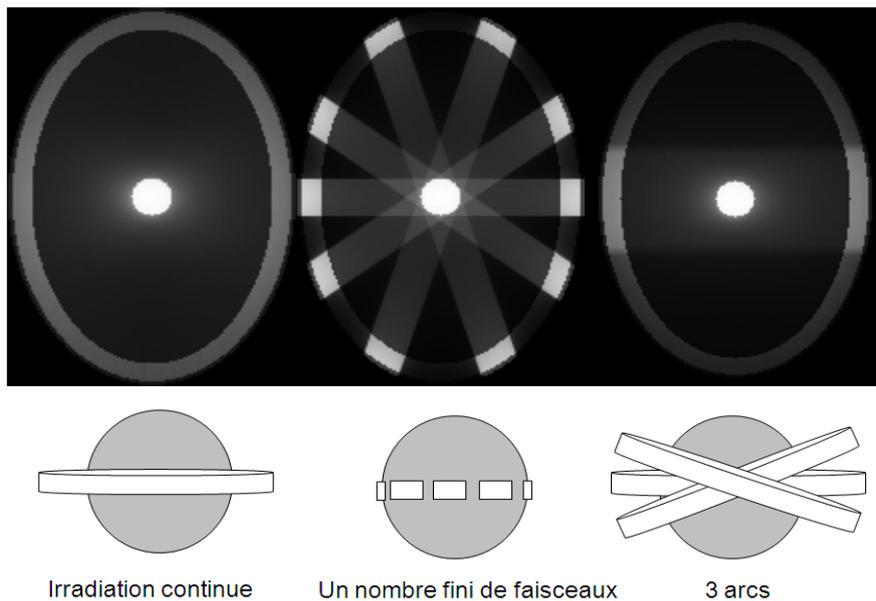
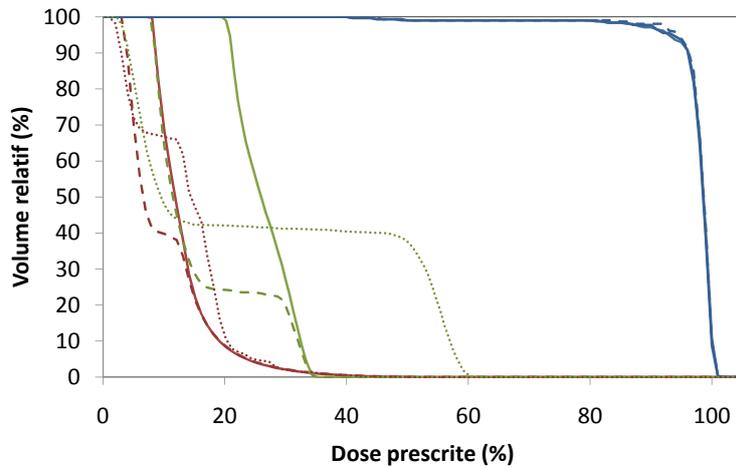


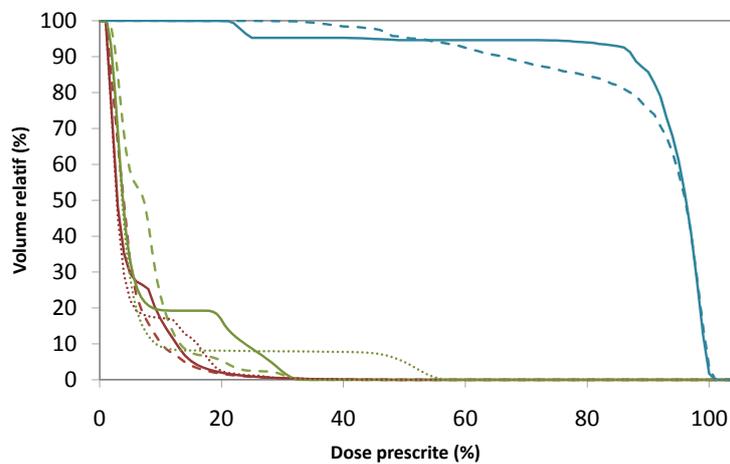
Figure 4.9 – Illustration des trois géométries simulées : irradiation planaire sur 360° , irradiation avec un nombre fini de ports et irradiation sur 3 plans non-coplanaires (tiltés de 20° par rapport au plan XY). Il s'agit des distributions de dose obtenues dans le plan XY pour les trois géométries d'irradiations à 80 keV (la dose maximale apparaît en blanc).

Nous avons tracé pour les trois cas de figures les DVH axiaux et volumiques.

Les DVH obtenus pour 10 mg/mL d'iode dans la tumeur et une irradiation à 80 keV sont présentés figure 4.10.



a) DVH axiaux



b) DVH volumiques

Figure 4.10 – DVH (a) axiaux et (b) volumiques suivant la géométrie d'irradiation : irradiation sur 3 plans non-coplanaires (traits discontinus), irradiation sur 360° dans un plan (traits continus) et irradiation avec 10 faisceaux (pointillés). Les DVH correspondant à la tumeur apparaissent en bleu, pour le cerveau en rouge et pour l'os en vert.

DVH surfaciques L'irradiation sur 3 arcs non-coplanaires permet une meilleure protection du cerveau et de l'os qui reçoivent moins de dose qu'avec une irradiation arc unique pour une distribution de dose dans la tumeur similaire. 21% de la dose prescrite est reçue par 100% et 25% de l'os pour une irradiation continue sur 1 arc par rapport à 3 arcs respectivement. 10% de la dose prescrite est reçue par 100% et 40% du cerveau pour 1 arc et 3 arcs, respectivement. Dans les deux cas, 95% de la tumeur reçoit 95% de la dose prescrite. Les distributions de dose dans le cerveau et dans l'os sont assez différentes selon que l'on considère une irradiation avec 10 faisceaux ou une irradiation continue (1 ou 3 arcs). Pour 10 faisceaux, environ 40% de l'os reçoit plus de 50% de la dose prescrite. Avec l'irradiation en continue, aucune portion d'os ne reçoit plus de 30% de la dose prescrite. La même tendance est observée pour le cerveau mais celle-ci est moins marquée. 65% du cerveau irradié avec 10 faisceaux reçoit plus de 15% de la dose prescrite tandis que 15% de la dose prescrite est reçue par moins de 40% du cerveau pour une irradiation continue.

DVH volumiques Une distribution de dose similaire dans la tumeur est obtenue entre une irradiation continue sur 1 arc et une irradiation avec 10 faisceau. L'irradiation sur 3 arcs permet de diminuer la dose au cerveau et à l'os mais est accompagnée d'une diminution de la dose dans la tumeur parce que pour les angles $\pm 20^\circ$, les dimensions du faisceau ne correspondent plus à la tumeur. Il n'y a pas de réel avantage à utiliser une irradiation continue plutôt qu'une irradiation avec 10 faisceaux, si ce n'est au niveau de l'os dont une partie reçoit des doses plus élevées. Pour une irradiation continue, l'os entier reçoit moins de 30% de la dose prescrite. Pour une irradiation avec 10 faisceaux, même si 92% de l'os reçoit moins de 9% de la dose prescrite, 8% de l'os reçoit entre 40 et 55% de la dose prescrite. Pour chaque géométrie, environ 60% de la tumeur reçoit plus de 95% de la dose prescrite. Pour le cerveau, moins de 20% de l'organe reçoit plus de 10% de la dose prescrite quel que soit le schéma d'irradiation utilisé.

Discussion Pour la RSRS, l'irradiation en mode tomographique permet d'obtenir les distributions de dose les plus favorables, particulièrement pour la protection de l'os. Ceci est cohérent avec les études précédentes [Mesa et al., 1999, Boudou et al., 2005]. Une irradiation avec 3 arcs non-coplanaires permet de diminuer la dose à l'os mais augmente la dose au cerveau si la forme du faisceau n'est pas modulée en fonction de la taille de la tumeur.

4.6 Utilisation de marges

Nous avons étudié la qualité de la distribution de dose dans la tumeur en fonction de la taille des marges utilisées à l'aide d'un DVH volumique (cf figure 4.11) et des écarts types relatifs ($\frac{\sigma_D}{D}$, rapport des écarts types sur la dose moyenne) obtenus dans tout le volume de la tumeur (cf tableau 4.3).

Une nette amélioration a été obtenue en terme d'uniformité de la distribution de dose avec 1 mm de marge. En augmentant la taille des marges, on améliore un peu plus l'homogénéité. Le DVH volumique montre que 82% de la tumeur reçoit plus de 95% de la dose prescrite lorsque l'on utilise 3 mm de marge.

Taille de la marge (cm)	0	0.1	0.3	0.5	1
$\frac{\sigma_D}{D}$	0.178	0.05	0.046	0.045	0.044

Tableau 4.3 – Variabilité de la dose dans la tumeur en fonction de la taille de la marge utilisée.

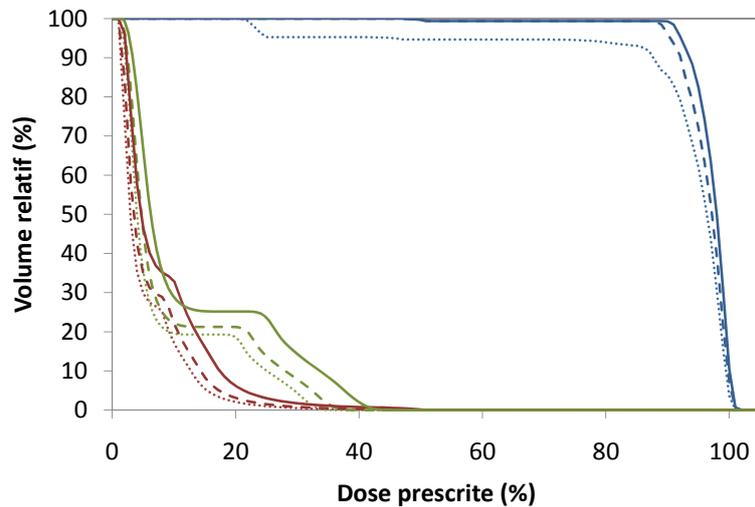


Figure 4.11 – Histogramme dose volume (DVH) comparant différentes tailles de marges (0 en pointillé, 1 en trait discontinu et 3 mm en trait continu). Les DVH correspondant à la tumeur apparaissent en bleu, l'os en vert et le cerveau en rouge.

Discussion Nous avons démontré que l'utilisation de marges permet d'améliorer les distributions de dose dans la tumeur. 1 mm de marge suffit à améliorer significativement l'homogénéité de la dose dans la cible. Cette marge permet d'atteindre l'équilibre électronique pour des photons de 80 keV. L'utilisation de marges plus larges telles que 3 mm permet d'améliorer la distribution de dose mais ceci pourrait être dû à la géométrie voxelisée. En effet 3 mm correspondent à 3 largeurs de voxels ce qui permet d'éliminer des effets de volume partiel. Utiliser des marges de plus de 3 mm augmente la dose déposée dans les autres organes sans pour autant améliorer significativement la distribution de dose dans la tumeur. Ces résultats encouragent l'utilisation de marges de 3 mm qui de plus, correspondent à celles utilisées pour la radiothérapie stéréotaxique de métastases cérébrales [Pasciuti et al., 2008].

4.7 Optimisation de la distribution de dose par pondération des faisceaux

4.7.1 Homogénéité de la dose en fonction de la position de la tumeur

Nous avons ici étudié l'homogénéité de la dose dans le fantôme analytique suivant la position de la tumeur. Le tableau 4.4 indique les écarts types relatifs ainsi que l'asymétrie du profil latéral. L'asymétrie a été calculée comme suit :

$$A = 100 \times \frac{A_G - A_D}{A_G + A_D}$$

avec A_G et A_D les aires sous les parties gauches et droites du profil latéral de la tumeur. Le centre de la tumeur est défini comme l'isocentre.

Les profils de dose obtenus pour une tumeur centrée ou décentrée et une irradiation en mode tomographique (80 keV) sont présentés figure 4.12. La distribution de dose obtenue pour la tumeur décentrée apparaît relativement hétérogène. Le facteur d'asymétrie A est supérieur à 11% dans ce cas particulier. Ceci suggère la nécessité de pondérer les faisceaux pour homogénéiser la dose.

	tumeur centrée	tumeur décentrée
$\frac{\sigma_D}{D}$ (ROI de $1 \times 1 \times 1 \text{ cm}^3$)	0.01	0.04
$\frac{\sigma_D}{D}$ (volume entier)	0.18	0.19
Asymétrie (%)	0.1	11.2

Tableau 4.4 – Variabilité de la dose dans la tumeur et le facteur d’asymétrie suivant la position de la tumeur.

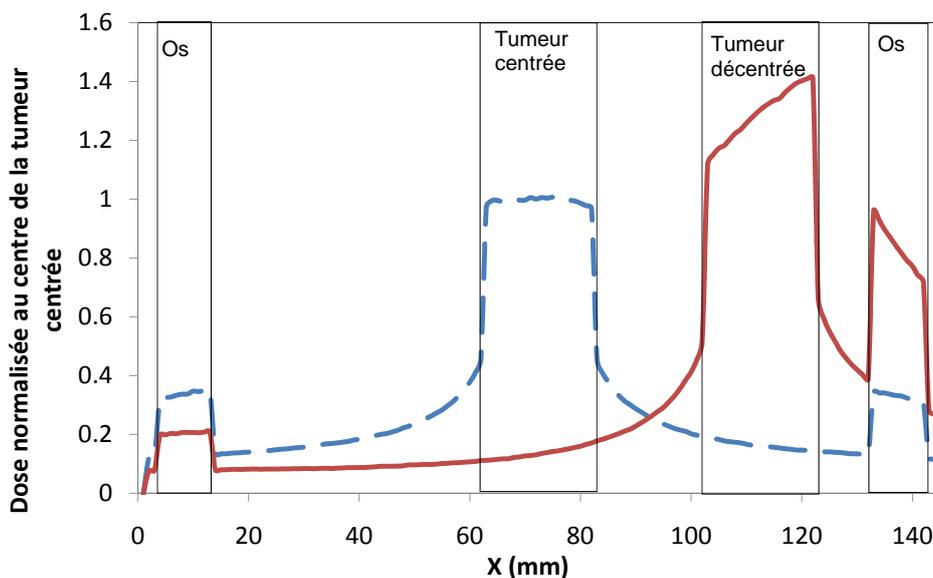


Figure 4.12 – Profils de dose latéraux obtenus dans le fantôme tête pour une tumeur centrée (bleu) ou décentrée (rouge), irradiée à 80 keV en mode tomographique. Les profils sont normalisés au pixel central de la tumeur centrée.

4.7.2 Explication illustrée de la pondération des faisceaux

Le principe de cette optimisation est d’utiliser un nombre pair de faisceaux fonctionnant en opposition. L’atténuation de l’un pourra être compensée par l’atténuation de son opposé. La pondération est définie de manière à ce que chaque faisceau dépose la même dose dans la cible (intégrale sur la cible). Les pondérations sont obtenues à partir de simulations préliminaires (une simulation par faisceau). La figure 4.13 est une illustration du principe obtenue dans le fantôme tête, pour une tumeur décentrée de 4 cm avec deux faisceaux opposés appelés 0 et 180° (cf figure 4.13-a). Pour la figure 4.13-b, qui correspond au cas non-optimisé, 50 % des photons sont issus de chaque incidence. La somme des deux profils (en vert) conduit à un fort gradient de dose dans la tumeur. Pour la figure 4.13-c, qui correspond au cas optimisé, 19 % des photons ont été simulés en partant de l’incidence “0°” et le reste en partant du faisceau “180°”. On voit que la distribution de dose est compensée.

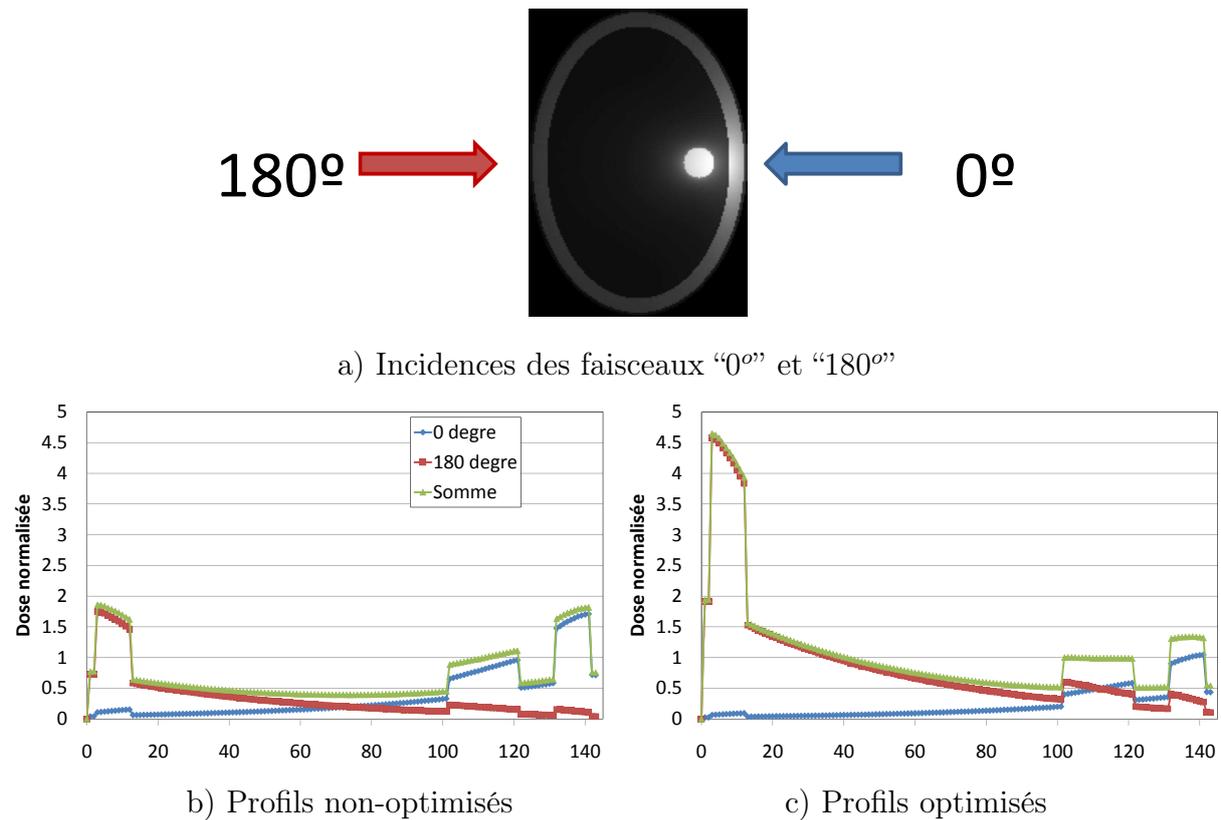


Figure 4.13 – Illustration du principe de pondération pour l'optimisation, avec deux faisceaux opposés "0°" (bleu) et "180°" (rouge) dans le fantôme tête ayant une tumeur décalée de 4 cm. Pour le cas non-optimisé, 50% des photons partent de chacune des incidences, tandis que pour le cas optimisé (après pondération) 19 % partent de l'incidence "0°" et le reste de l'incidence "180°". La somme des deux profils est tracée en vert.

4.7.3 Évaluation de la méthodologie d'optimisation sur le fantôme tête

Des simulations ont été réalisées dans le fantôme tête pour évaluer :

- la qualité de cette optimisation pour un faisceau polychromatique
- le nombre de faisceaux monochromatiques nécessaire pour obtenir une homogénéité satisfaisante dans la tumeur entière.

Tous les résultats présentés ici, ont été obtenus avec le fantôme tête analytique et avec un faisceau de 80 keV (sauf si précisé). Une tumeur cylindrique (2 cm de diamètre et 2 cm de hauteur) contenant 10 mg/mL d'iode est positionnée à 4 cm vers la droite (direction x , cf figure 4.13). Les résultats ont été obtenus en simulant 5×10^7 photons et en utilisant le *tally* F6. L'étude a été effectuée en voxelisant une seule coupe axiale de 1 mm d'épaisseur.

Dans tous les cas de figure, nous présenterons les cartes de dose, les profils obtenus suivant la direction x qui est la direction où la tumeur est la plus excentrée ainsi que DVH surfaciques. Les DVH sont normalisés par rapport à la dose moyenne déposée dans une ROI de $4 \times 4 \text{ mm}^2$ centrée dans la tumeur, qui est la dose prescrite. Les rapports entre écart type et dose moyenne déposée dans tous les voxels ($\Delta D/D$) correspondant à la tumeur (uniquement dans la coupe centrale) ou dans une ROI de $1 \times 1 \text{ cm}^2$ centrée dans la tumeur sont aussi indiqués. Nous avons indiqué les $\Delta D/D$ dans une ROI interne à la tumeur pour avoir une information sur l'homogénéité de la dose dans la cible en excluant les voxels appartenant au gradient de dose de la périphérie de la tumeur.

4.7.3.1 Cas d'un faisceau polychromatique

Nous avons évalué, dans cette étude, l'efficacité de la méthode d'optimisation pour un faisceau polychromatique de 120 kVp. Nous avons vu section 4.7.2 que le principe de cette optimisation est défini pour compenser les différences d'atténuation suivant le parcours des photons mais pas les problèmes de durcissement de faisceau. Avec un faisceau monochromatique, le spectre énergétique évolue très peu au fur et à mesure de la traversée de la tête (la proportion de photons diffusés est faible, cf figure 4.8). Il a été montré [Verhaegen et al., 2005] qu'avec un faisceau polychromatique, le problème du durcissement de faisceau s'additionne à celui de l'atténuation. Nous proposons de tester la méthodologie d'optimisation avec un faisceau polychromatique et avec une concentration en iode de l'ordre de celle qui pourra être obtenue pour les essais cliniques, soit 10 mg/mL. Les résultats obtenus sont présentés figure 4.14.

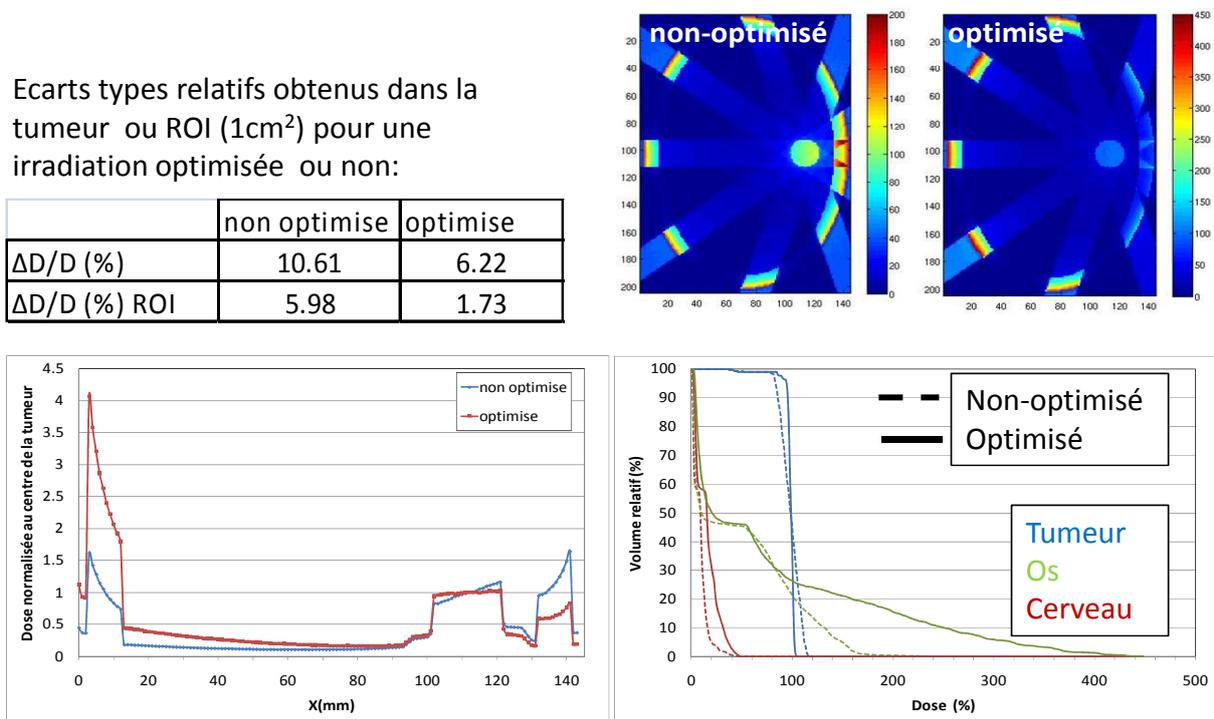


Figure 4.14 – Cartes de dose, profils et DVH obtenus pour une irradiation du fantôme tête avec un spectre de **120 kVp** et **10 faisceaux** équi-répartis pondérés ou non. Le profil bleu est le profil non-optimisé et le rouge, l'optimisé. Les courbes bleues du DVH correspondent aux DVH de la tumeur, les rouge aux DVH du cerveau et les vertes aux DVH de l'os du crâne. Les traits pleins correspondent à l'irradiation optimisée et les pointillés à l'irradiation équi-pondérée.

La méthode d'optimisation fonctionne avec un faisceau polychromatique. La distribution de dose obtenue dans la tumeur est relativement homogène comme on peut la visualiser sur les profils ou encore avec les $\Delta D/D$ dans la ROI centrée dans la tumeur (passe de 6 à 2%) ou dans tous les voxels appartenant à la tumeur (de 11 à 6%). Pour 10 mg/mL d'iode dans la tumeur, le problème de durcissement de faisceau n'apparaît pas, la dose déposée dans la tumeur n'est pas en forme de cuvette comme l'avait obtenue Verhaegen *et al.* [Verhaegen et al., 2005] avec une concentration d'iode plus élevée (50 mg/ml d'iode). La dose déposée dans l'os est par contre très élevée (doses maximales : 285 et 448% de la dose prescrite pour les faisceaux non-optimisés et optimisés respectivement).

4.7.3.2 Nombre de faisceaux nécessaire pour une optimisation satisfaisante

Nous avons évalué l'amélioration de la distribution de dose dans la tumeur en terme d'homogénéité en fonction du nombre de faisceaux utilisé. Nous avons comparé les distributions de dose obtenues avec 4, 6, 8 et 10 faisceaux monochromatiques de 80 keV équi-répartis autour de la tumeur (cf figure 4.15). Nous avons également étudié les profils, DVH (cf figure 4.16) et écarts types relatifs dans la tumeur et la ROI centrée dans la tumeur ($1 \times 1 \text{ cm}^2$), voir tableau 4.5.

		non optimisé	optimisé
4 faisceaux	$\Delta D/D$ (%)	8.28	6.55
	$\Delta D/D$ (%) ROI	3.79	1.63
6 faisceaux	$\Delta D/D$ (%)	8.26	6.05
	$\Delta D/D$ (%) ROI	4.09	1.25
8 faisceaux	$\Delta D/D$ (%)	8.23	6.11
	$\Delta D/D$ (%) ROI	4.02	1.32
10 faisceaux	$\Delta D/D$ (%)	8.16	6.02
	$\Delta D/D$ (%) ROI	3.96	1.29

Tableau 4.5 – Écarts types relatifs obtenus dans la tumeur (plan axial central) ou dans la ROI plane centrée dans la tumeur ($1 \times 1 \text{ cm}^2$) irradiée avec 4, 6, 8 et 10 faisceaux monochromatiques de 80 keV et contenant 10 mg/mL d'iode.

Dans tous les cas, la méthodologie d'optimisation fonctionne, c'est-à-dire que la distribution de dose dans la tumeur est plus homogène après pondération des faisceaux comme on peut le voir sur toutes les figures de mérite. Cependant, on n'obtient pas de différence significative en terme de $\Delta D/D$ entre 6, 8 et 10 faisceaux. Après optimisation, les $\Delta D/D$ obtenus pour 6, 8 et 10 faisceaux sont tous 6% et 1.3%, dans la tumeur et dans la ROI, respectivement. Par contre, on peut remarquer que plus on augmente le nombre de faisceaux, plus on améliore la distribution géométrique de la dose, plus la dose est répartie sur tout le volume ce qui permet de réduire la dose déposée dans l'os. On passe de 239 à 102% (pourcentage de dose prescrite) de dose maximale déposée dans l'os entre une irradiation avec 4 et 10 faisceaux.

L'optimum en terme d'homogénéité est donc d'utiliser au minimum 6 faisceaux. D'autre part, plus on utilise de faisceaux, plus on réduit les doses déposées dans les tissus sains et notamment l'os.

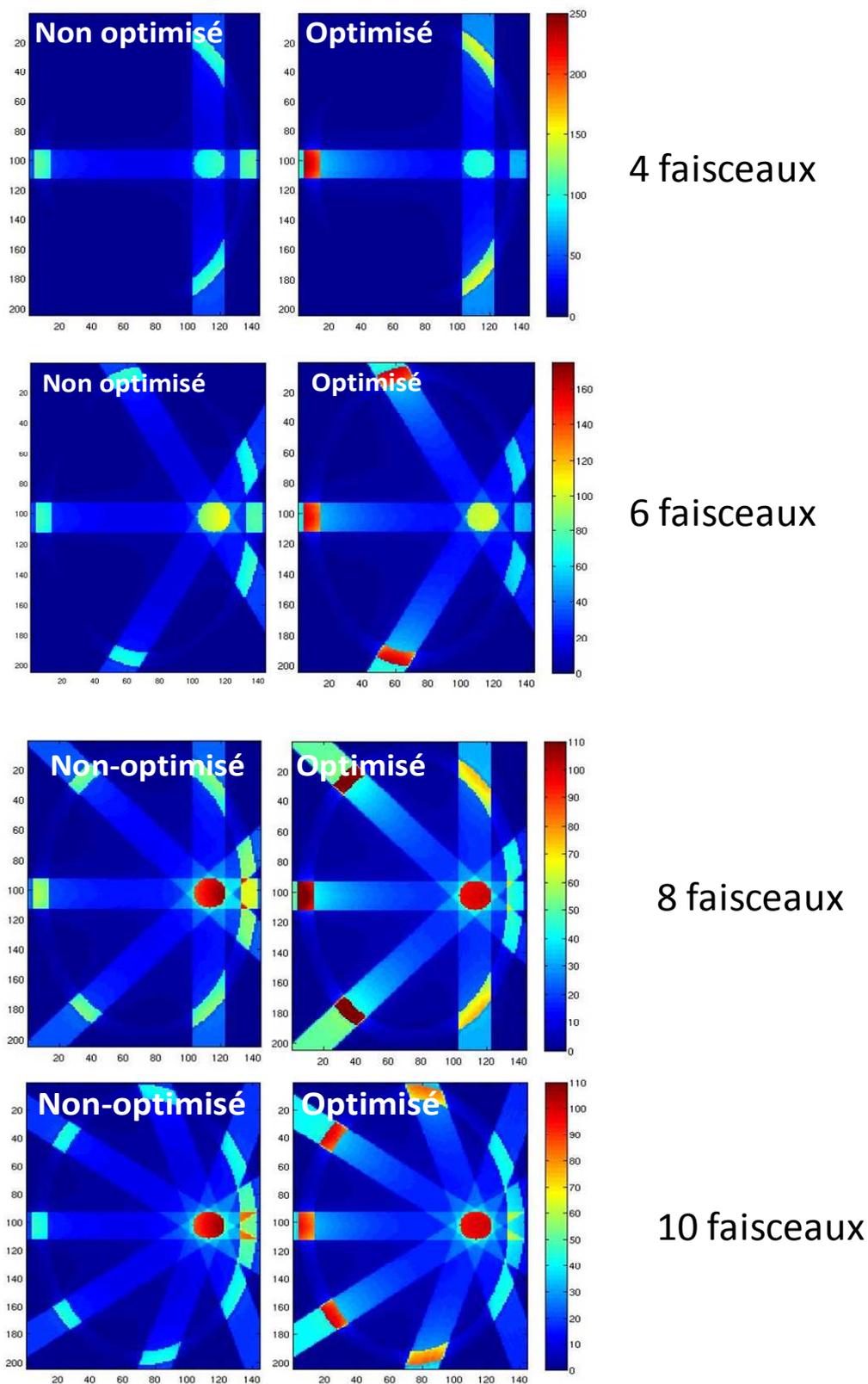
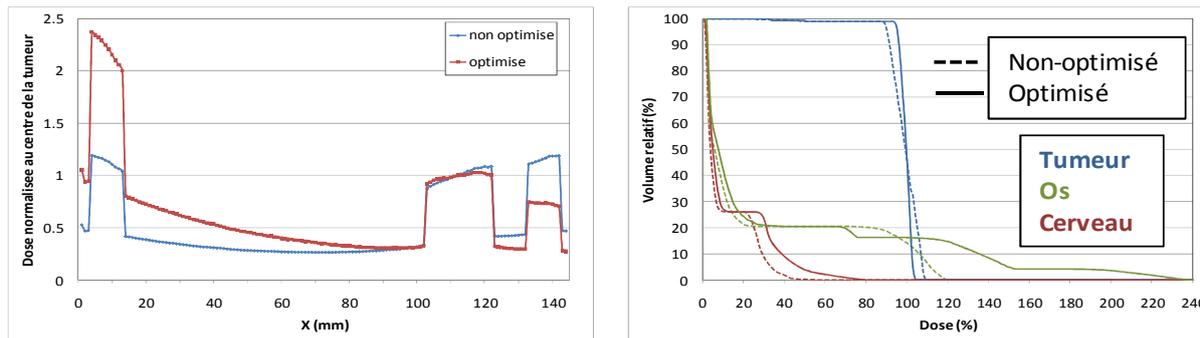
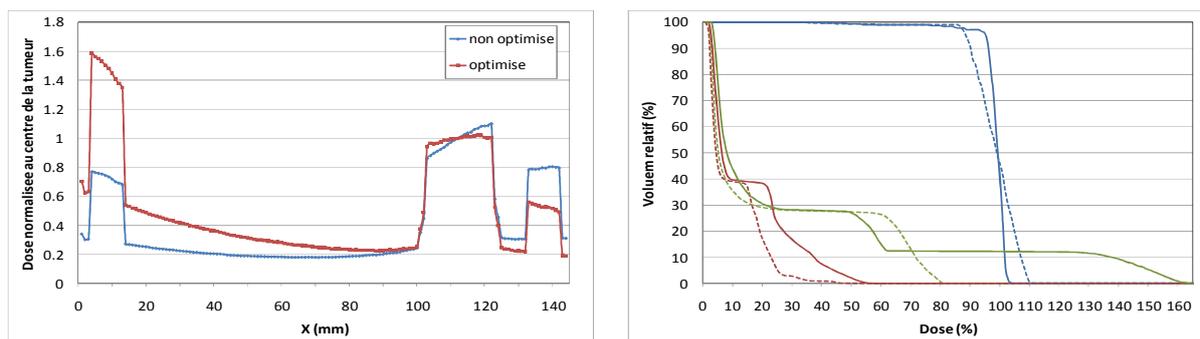


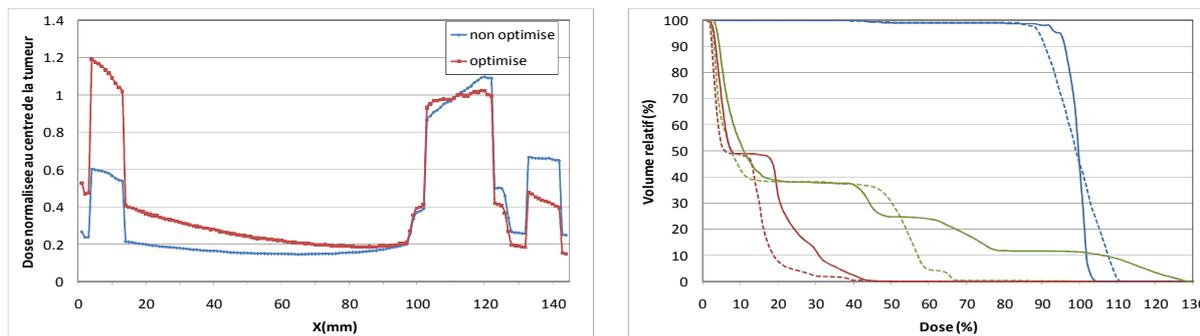
Figure 4.15 – Cartes de doses exprimées en pourcentage de la dose prescrite obtenues pour 4, 6, 8 ou 10 faisceaux non-optimisés et optimisés, avec un faisceau monochromatique de 80 keV et 10 mg/mL d'iode dans la tumeur.



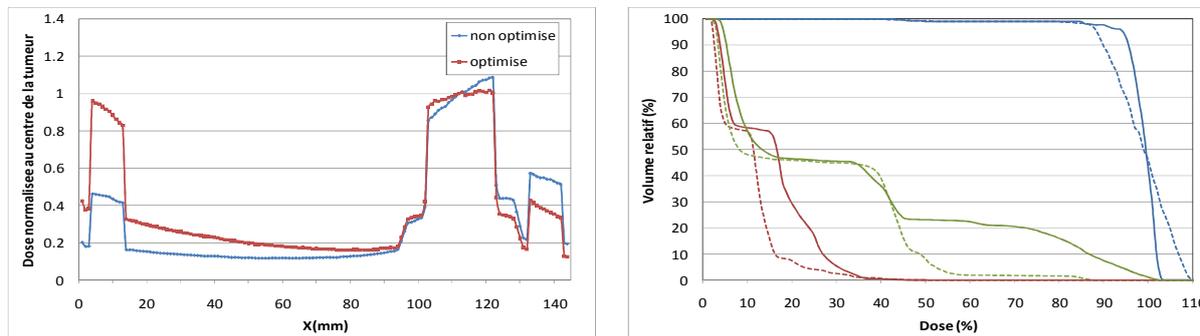
a) 4 faisceaux



b) 6 faisceaux



c) 8 faisceaux



d) 10 faisceaux

Figure 4.16 – Profils suivant la direction x et DVH obtenus pour 10 mg/mL d'iode dans la tumeur, pour une irradiation avec un faisceau monochromatique de 80 keV et 4, 6, 8 ou 10 faisceaux équi-répartis optimisés ou non.

4.7.3.3 Dose maximale déposée à l'os

Le tableau 4.6 récapitule les doses maximales déposées à l'os exprimées en pourcentage de la dose prescrite.

	non optimisé	optimisé
120 kVp, 10 faisceaux (%)	285	448
80 keV, 10 faisceaux (%)	87	102
80 keV, 8 faisceaux (%)	96	129
80 keV, 6 faisceaux (%)	80	164
80 keV, 4 faisceaux (%)	119	239

Tableau 4.6 – Dose maximale déposée dans l'os pour les différentes configurations étudiées (en pourcentage de la dose prescrite). 120 kVp est un faisceau polychromatique et 80 keV monochromatique.

L'utilisation d'un faisceau monochromatique permet de réduire considérablement les points chauds de dose déposée dans l'os (de 448% à 102 % pour 10 faisceaux polychromatiques et monochromatiques respectivement). La dose maximale déposée à l'os est augmentée lorsque l'on utilise la méthode d'optimisation par rapport à une équi-pondération (87% pour 10 faisceaux non-optimisés et 102% pour 10 faisceaux optimisés). Cependant, augmenter le nombre d'incidence permet de diminuer la dose délivrée à l'os (239% pour 4 incidences contre 102% pour 10 incidences). Une solution au cas par cas, pour diminuer la dose à l'os pourrait être de supprimer les angles pour lesquels la tumeur est fortement décentrée, et ne pas forcément utiliser des faisceaux équi-répartis.

4.7.4 Évaluation de la méthodologie d'optimisation sur les données réalistes

Nous avons étudié les DVH volumiques comparant une irradiation avec 10 faisceaux équi-pondérés, pondérés et avec 7 faisceaux pondérés (pour souligner l'importance du nombre pair). Le détail des pondérations est indiqué tableau 4.7. Pour rappel, la pondération est obtenue de telle manière que chaque faisceau dépose la même dose dans le volume entier de la tumeur.

	10 faisceaux non-pondérés		10 faisceaux pondérés		7 faisceaux pondérés	
Angle (deg)	Pondération normalisée	Dose tumeur (Gy)	Pondération normalisée	Dose tumeur (Gy)	Pondération normalisée	Dose tumeur (Gy)
0	0.1	$0.07 \times Dp$	0.078	$0.1 \times Dp$	0.230	$0.14 \times Dp$
36	0.1	$0.12 \times Dp$	0.050	$0.1 \times Dp$	0.148	$0.14 \times Dp$
72	0.1	$0.16 \times Dp$	0.035	$0.1 \times Dp$	0.105	$0.14 \times Dp$
108	0.1	$0.18 \times Dp$	0.033	$0.1 \times Dp$	0.097	$0.14 \times Dp$
144	0.1	$0.17 \times Dp$	0.035	$0.1 \times Dp$	0.103	$0.14 \times Dp$
180	0.1	$0.13 \times Dp$	0.045	$0.1 \times Dp$	0.133	$0.14 \times Dp$
216	0.1	$0.09 \times Dp$	0.062	$0.1 \times Dp$	0.184	$0.14 \times Dp$
252	0.1	$0.04 \times Dp$	0.159	$0.1 \times Dp$		
288	0.1	$0.02 \times Dp$	0.322	$0.1 \times Dp$		
324	0.1	$0.03 \times Dp$	0.183	$0.1 \times Dp$		

Tableau 4.7 – Récapitulatif des pondérations utilisés pour les cas d'irradiations étudiés sur les données réalistes d'un patient porteur de métastases. Dp correspond à la dose prescrite (dose moyenne au centre de la tumeur, ROI de 2×2 voxels). L'angle 0° correspond à l'angle initial, au faisceau latéral droit. L'irradiation est réalisée dans le sens des aiguilles d'une montre.

Les distributions de dose et DVH permettant de comparer les trois approches sont présentées figure 4.17 pour une irradiation à 80 keV. Apparaissent également, les DVH obtenus avec un faisceau de 6 MV pour comparer à ce que l'on pourrait obtenir en radiothérapie conventionnelle.

A 80 keV, il n'y a pas de différences significatives en termes de distribution de dose dans la tumeur entre l'irradiation avec 10 faisceaux non-pondérés et l'irradiation avec 7 faisceaux pondérés. Seulement 3% de la tumeur reçoit 95% de la dose prescrite. Pour l'irradiation avec 10 faisceaux pondérés, le faisceau qui traverse le plus de matière avant d'atteindre la tumeur est pondéré à 30%, ce qui conduit à déposer des fortes doses dans l'os pour cette incidence comme on peut le voir sur la figure 4.17-b. Les pourcentages de la tumeur qui reçoit 95% de la dose prescrite sont 59%, 63% et 75% pour les 10 faisceaux non-pondérés, les 7 faisceaux pondérés et les 10 faisceaux pondérés respectivement. 100% de la tumeur, reçoit 75%, 75% et 83% de la dose prescrite, les doses maximales mesurées dans la cible sont 118%, 120% et 113% pour 10 faisceaux non-pondérés, 7 faisceaux pondérés et 10 faisceaux pondérés respectivement.

Les valeurs d'asymétrie sur les profils horizontaux et verticaux ont été calculées pour les trois cas et sont reportées tableau 4.8.

Nombre de faisceaux :	10	10	7
	Non-pondérés	Pondérés	Pondérés
Profil horizontal	2.4%	2.3%	2.9%
Profil vertical	9.3%	0.7%	7.3%

Tableau 4.8 – Asymétries obtenues sur les profils verticaux et horizontaux pour les 3 cas étudiés (10 faisceaux non-pondérés et pondérés, 7 faisceaux pondérés).

Les valeurs d'asymétrie obtenues pour le profil horizontal sont relativement constantes. Ceci s'explique par le fait que la tumeur est centrée dans cette direction. Pour le profil vertical, l'asymétrie est diminuée de 9.3% à 0.7% entre l'irradiation avec 10 faisceaux non-pondérés et pondérés.

Pour l'irradiation avec le 6 MV, la distribution de dose dans la tumeur est similaire quelle que soit la géométrie d'irradiation et les pondérations : 100% de la tumeur reçoit

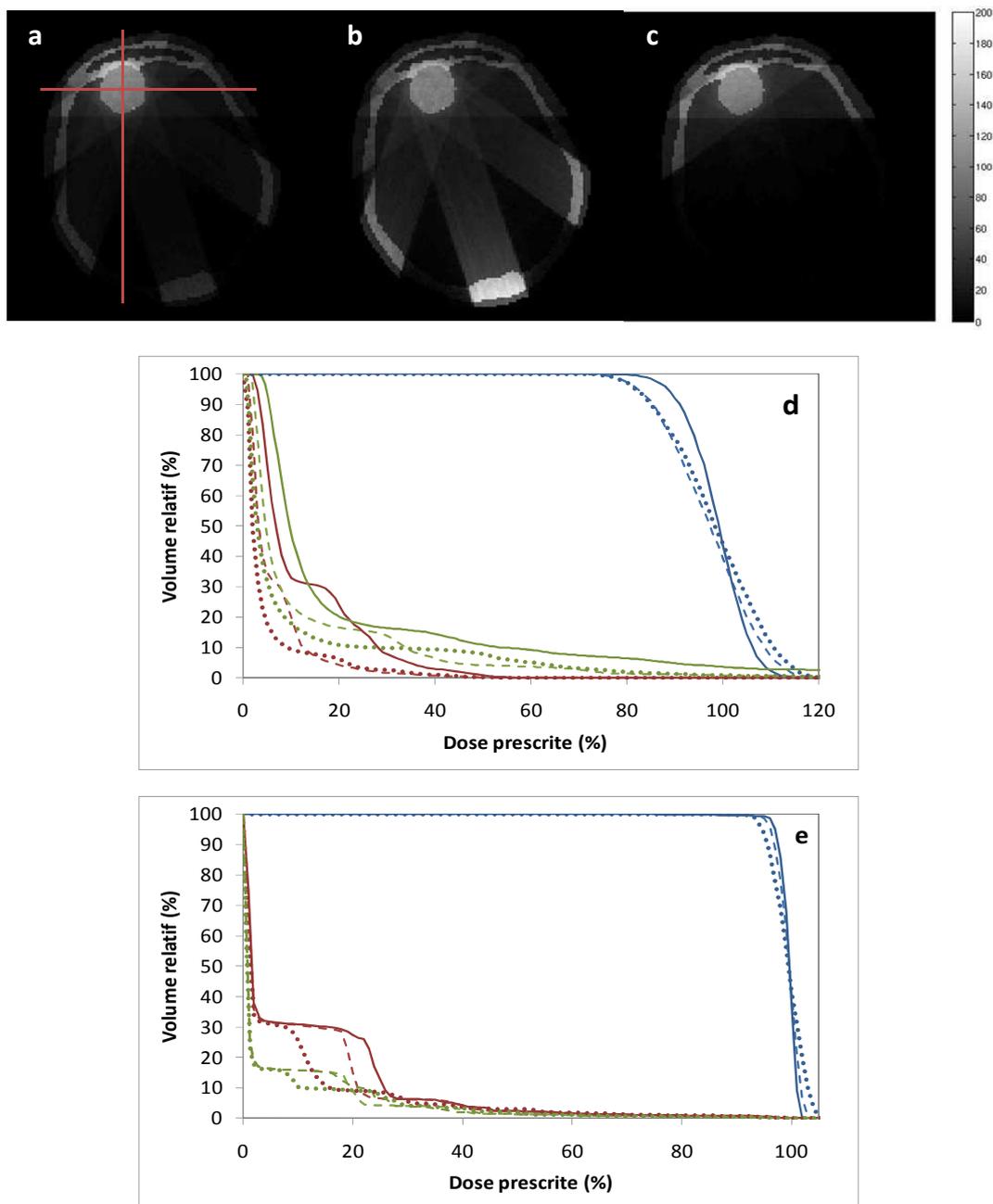


Figure 4.17 – Distribution de doses relatives (a) pour 10 faisceaux de 80 keV équi-répartis et équi-pondérés (b) pour 10 faisceaux pondérés et (c) pour 7 faisceaux pondérés. Les profils horizontaux et verticaux traversant la tumeur et utilisés pour les calculs d'asymétrie sont indiqués en rouge sur la figure (a). Les DVH obtenus pour 10 faisceaux non-pondérés apparaissent en traits discontinus, pour 10 faisceaux pondérés en courbes pleines et pour 7 faisceaux pondérés en pointillés pour une irradiation (d) à 80 keV et (e) à 6 MV. Les courbes bleues correspondent à la tumeur, les rouges au cerveau et les vertes à l'os.

93%, 94% et 94% de la dose prescrite et les doses maximales sont 105%, 103% et 102% pour les 7 faisceaux pondérés, 10 faisceaux non-pondérés et pondérés, respectivement.

4.7.5 Discussion

Cette étude a été réalisée dans le cadre des futurs essais cliniques prévus au synchrotron de Grenoble. Un nombre fini de faisceaux sera utilisé pour le traitement de métastases. Nous avons démontré qu’une irradiation avec 10 faisceaux et une irradiation en continue sur 360° donne relativement la même distribution de dose dans la tumeur. Prezado *et al.* [Prezado et al., 2009a] ont étudié sur le fantôme analytique une irradiation avec un nombre impair de faisceaux (9). Nous avons dans cette l’étude testé une irradiation avec 7 faisceaux. Utiliser un nombre impair de faisceaux permet de réduire la dose à l’os (les faisceaux ne se superposent qu’au niveau de la cible). Nous avons, par contre, démontré l’intérêt d’utiliser un nombre pair de faisceaux pour homogénéiser la distribution de dose dans la tumeur puisque l’atténuation des rayons-X de basses énergies ne peut être négligé dans la tumeur. Ce n’est pas le cas du faisceau de 6 MV qui est peu atténué dans la tumeur. C’est pourquoi pour le 6 MV, nous avons obtenu une distribution de dose homogène sans pondérer les faisceaux.

Avec la méthode de pondération des faisceaux décrite dans cette étude, 100% de la tumeur reçoit 83% et 82% de la dose prescrite pour la tumeur excentrée dans la fantôme analytique et les données réalistes d’un patient respectivement. Il est important de préciser que la dose prescrite utilisée dans cette étude est la dose moyenne déposée au centre de la tumeur (ROI de 2×2 voxels) et que les recommandations de l’ICRU pourrait être facilement atteintes si la prescription était faite sur une isodose plutôt qu’un point. Ceci conduirait à des points chauds jusqu’à 130% mais uniquement dans la tumeur.

Il est aussi important de souligner que les simulations ont été réalisées avec une distribution homogène de l’élément lourd. Une distribution plus réalistes conduirait à plus de variations dans la distribution de dose dans la tumeur mais pourrait être compensée par modulation d’intensité ou encore modulation d’énergie des photons. Cette hétérogénéité, dans la distribution en iode et dose dans la tumeur, n’affecte que très peu les distributions de dose dans les autres organes.

4.7.6 Conclusion

Nous avons démontré dans cette étude que la RSRS pouvait permettre de réduire la dose déposée dans le tissu cérébral comparée à une irradiation “conventionnelle” (MV).

Nous avons trouvé que l’énergie optimale en terme d’augmentation de dose pour l’iode, le gadolinium et l’or se situe entre 50-90 keV. Pour l’iode, 80 keV a été choisie comme compromis entre l’augmentation de dose dans la tumeur et la protection de l’os. Utiliser une marge de 3 mm est nécessaire pour obtenir une bonne distribution de dose dans la tumeur. Nous avons aussi démontré qu’il est intéressant d’irradier avec un nombre pair de faisceaux pour compenser l’atténuation de l’un par son opposé. La méthodologie d’optimisation a été validée sur les données d’un patient porteur d’une métastase, pour un cas particulièrement difficile où la cible est très excentrée et se trouve près de l’os.

La prochaine étape sera de considérer une distribution en iode plus réaliste et trouver une méthodologie pour compenser ces hétérogénéités comme la modulation d’intensité ou encore la modulation d’énergie des photons.

Deuxième partie

Étude microdosimétrique, influence de la répartition de l'élément lourd

Chapitre 5

Notions de microdosimétrie et problématique

Sommaire

5.1	Notions de microdosimétrie et modèles radiobiologiques . . .	95
5.1.1	Dommages de l'ADN, effets directs et indirects de l'irradiation	95
5.1.2	Évolution de la microdosimétrie dans ses grandes lignes	97
5.1.3	Modèles biologiques	100
5.1.4	Transfert d'énergie linéique (TEL)	107
5.1.5	Les compteurs proportionnels micrométriques et nanométriques	108
5.1.6	Formalisme de la microdosimétrie proposé par Rossi & Kellerer	108
5.2	Microdosimétrie des radiothérapies utilisant la combinaison irradiation & atomes cibles présents dans la tumeur	115
5.2.1	Boron Neutron Capture Therapy (BNCT)	115
5.2.2	Radiothérapie stéréotaxique par rayonnement synchrotron . .	119
5.3	Problématique de la partie microdosimétrique	127

Ce chapitre présente la microdosimétrie pour la radiobiologie puis pour les techniques spécifiques utilisant des agents augmentant la dose localement dans un but thérapeutique.

Nous aborderons, dans un premier temps, les effets du rayonnement sur l'ADN, la microdosimétrie en général, son évolution et son utilité pour définir des modèles radiobiologiques. Le formalisme de la microdosimétrie mis en place par Rossi et Kellerer est expliqué mais ne sera pas utilisé pour les études présentées dans le chapitre 6 qui consistera en des simulations Monte Carlo, à l'étude du dépôt d'énergie dans des volumes cibles, c'est-à-dire dans les cellules ou noyaux.

Dans un deuxième temps, nous ferons un point sur la microdosimétrie pour la radiothérapie stéréotaxique par rayonnement synchrotron (RSRS) mais aussi pour la boron neutron capture therapy (BNCT). En effet, comme on le verra, la BNCT possède de nombreux points communs en dosimétrie avec la RSRS. Finalement, la problématique de cette partie de la thèse sera exposée.

5.1 Notions de microdosimétrie et modèles radiobiologiques

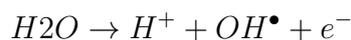
5.1.1 Dommages de l'ADN, effets directs et indirects de l'irradiation

L'énergie déposée lors d'irradiations entraîne des réactions physico-chimique, chimique et biologique. Le rayonnement peut avoir :

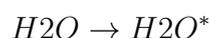
- une action directe sur les constituants de l'ADN qui concerne l'interaction de la molécule d'ADN avec une particule incidente qui va induire des ionisations ou des excitations. Cet effet représente 15 à 20% des lésions.
- une action indirecte due à l'interaction d'espèces radicalaires puis moléculaires résultant de la radiolyse de l'eau avec le milieu aqueux environnant. C'est l'effet indirect, prépondérant en biologie qui représente environ 80 % des lésions.
- on distingue également un effet quasi-direct qui est dû aux transferts des charges créées dans l'enveloppe d'hydratation vers l'ADN.

Radiolyse de l'eau Les ionisations et excitations de la molécule d'eau se traduisent par :

des ionisations



des excitations



Les électrons sont ralentis par ionisations et excitations successives jusqu'à ce qu'ils possèdent une énergie inférieure au seuil d'excitation électronique de l'eau liquide (7.4 eV). Ce sont alors des électrons de subexcitation, e_{se}^- .

Étape physico-chimique Les produits radiolytiques ($\text{H}_2\text{O}^{\bullet+}$, H_2O^* , e_{se}^-) vont se transformer en espèces plus stables. C'est la phase de décomposition radicalaire de l'eau avec formation de radicaux hautement réactifs (OH^\bullet , H^\bullet , e_{aq}^-) en des temps inférieurs à 10^{-12}s . Les radicaux présentent un électron non apparié qui leur confère une haute réactivité chimique. L' e_{aq}^- provient de l' e_{se}^- et est un réducteur puissant.

Étape chimique Au cours de cette étape ($10^{-12}\text{s} < t < 10^{-6}\text{s}$), les différentes espèces radiolytiques créées diffusent et réagissent entre elles ou avec des solutés présents en concentration suffisante dans le milieu. Des réactions de recombinaison sont dans un premier temps favorisées du fait de la forte concentration locale en radicaux libres. Elles conduisent à la formation d'eau, d'ions OH^- et à l'apparition de produits moléculaires tels que H_2 et H_2O_2 . Par la suite, des réactions radicaux-produits moléculaires concurrencent les réactions de recombinaison (dès que la concentration en produits moléculaires n'est plus négligeable devant celle des radicaux).

Des réactions de diffusion s'opposent graduellement aux réactions précédentes puisque leur vitesse décroît avec la concentration. Elles tendent à l'homogénéisation de l'ensemble du milieu irradié.

Environ $1\ \mu\text{s}$ après l'interaction, la distribution des espèces présentes a atteint un état stationnaire au sein du milieu : le système entre dans une étape biologique.

Lésions de l'ADN Les dommages de l'ADN sont considérés comme étant le mécanisme principal des effets des rayonnements. Dans certains cas, l'irradiation du cytoplasme, de la membrane cellulaire ou de protéines peut provoquer des dommages sérieux à la cellule et induire des mutations et l'inactivation cellulaire. Cinq grands types de modifications de la molécule d'ADN ont été identifiés :

- les cassures de brin d'ADN
- les modifications de la structure chimique des bases puriques et pyrimidiques
- la création de sites abasiques
- la formation de pontages ADN-protéines
- la formation d'adduits.

La figure 5.1 est une représentation des effets directs et indirects des rayonnements sur la molécule d'ADN.

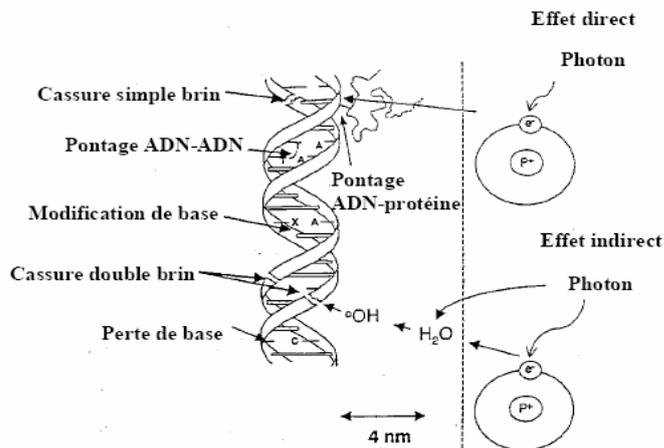


Figure 5.1 – Représentation des effets directs et indirects des rayonnements sur la molécule d'ADN.

Paramètres pouvant influencer la réponse cellulaire au traitement Les paramètres pouvant influencer la réponse biologique des cellules tumorales au traitement sont :

- le type de cellule
- des facteurs environnementaux
- la phase du cycle cellulaire dans laquelle se trouve les cellules (G2 est la phase la plus sensible et S la moins sensible)
- le taux d’oxygénation (surtout pour les irradiations avec des particules de bas TEL)
- la température (inhibition des processus de réparation à haute température pour les cellules tumorales et saines)
- la présence de radioprotecteur ou d’un sensibilisateur due à un autre traitement.

5.1.2 Évolution de la microdosimétrie dans ses grandes lignes

La dose, dans l’étude des radiations, est un concept macroscopique. De nombreuses études en radiobiologie ont déterminé le noyau et plus précisément l’ADN comme étant la cible la plus sensible d’une cellule [Painter, 1974]. L’importance de la distribution en énergie au niveau subcellulaire ainsi que la notion de cible apparaît. La microdosimétrie est l’étude de l’énergie déposée dans des volumes microscopiques : des cibles allant du diamètre de la cellule ($\sim 10 - 20 \mu m$) aux dimensions de l’ADN ($\sim 1 - 100 nm$). La microdosimétrie est basée sur le même concept d’énergie déposée par unité de masse que la dosimétrie macroscopique mais la taille microscopique des cibles introduit des effets stochastiques [report ICRU 36, 1983]. Le but de la microdosimétrie est la compréhension des mécanismes responsables des effets des radiations dans différents domaines tels que la radiobiologie mais aussi la chimie ou encore la dosimétrie des semi-conducteurs [Bradley et al., 2001]. En radiobiologie, il s’agit de définir des quantités pour lesquelles une valeur pourra être associée à un effet biologique dû aux radiations.

La réponse biologique est dépendante des fluctuations de l’énergie déposée dans la matière. Ces fluctuations peuvent être dues à : la nature, le nombre, l’énergie, le débit et la direction des particules chargées et neutres au point d’intérêt [Rossi and Zaider, 1991]. Dans le cas d’une irradiation photonique, la fluctuation de l’énergie déposée par cellule est faible. Inversement, si l’on prend l’exemple d’une irradiation par neutrons, les fluctuations sont importantes [Rossi, 1979]. Pour donner un ordre de grandeur, dans le cas des neutrons, environ 98% des cellules ne reçoivent pas d’énergie et quelques pourcents reçoivent des énergies 50 fois plus élevées que la moyenne. Les effets biologiques sont particulièrement dépendants de la topologie de l’énergie déposée. C’est pourquoi, il est important d’étudier ce type d’irradiation au niveau microscopique.

Une première approche pour expliquer les réponses biologiques fut d’étudier le “Transfert d’Énergie Linéique” ou TEL. Le TEL est l’énergie déposée au point d’intérêt par unité de longueur du parcours de la particule chargée. Le TEL est basé sur la perte moyenne d’énergie. Il n’informe pas sur la distribution de l’énergie absorbée et dépend de la taille du volume d’intérêt.

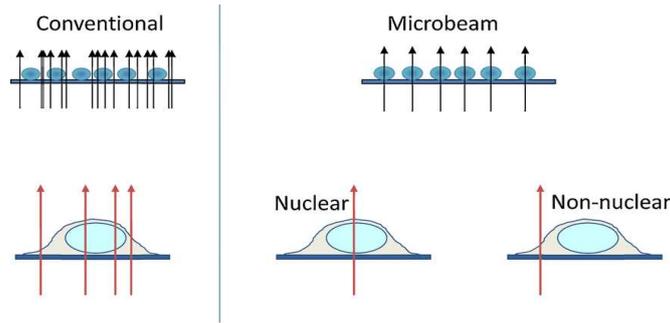
Rossi et ses collaborateurs [Rossi, 1959, Rossi, 1960, Rossi, 1967] ont proposé de caractériser un rayonnement à partir de son spectre microdosimétrique obtenu expérimentalement ou théoriquement. Le spectre microdosimétrique renseigne sur la probabilité que la particule incidente dépose une certaine énergie dans un volume micrométrique. Un compteur proportionnel permet de mesurer le spectre microdosimétrique d’un rayonnement. Il peut aussi être calculé par simulation Monte Carlo. La première approche fut de s’intéresser directement aux cibles (par exemple le noyau cellulaire), à l’énergie déposée dans celles-ci suivant le nombre d’évènements s’y étant produits. La seconde approche introduite par Kellerer au début des années 70 [Kellerer and Chmelevsky, 1975a,

Kellerer and Chmelevsky, 1975b, Kellerer and Chmelevsky, 1975c], appelée microdosimétrie structurale, propose de caractériser une ou plusieurs trajectoires simulées plutôt que de s'intéresser à un volume cible traversé par de nombreuses particules.

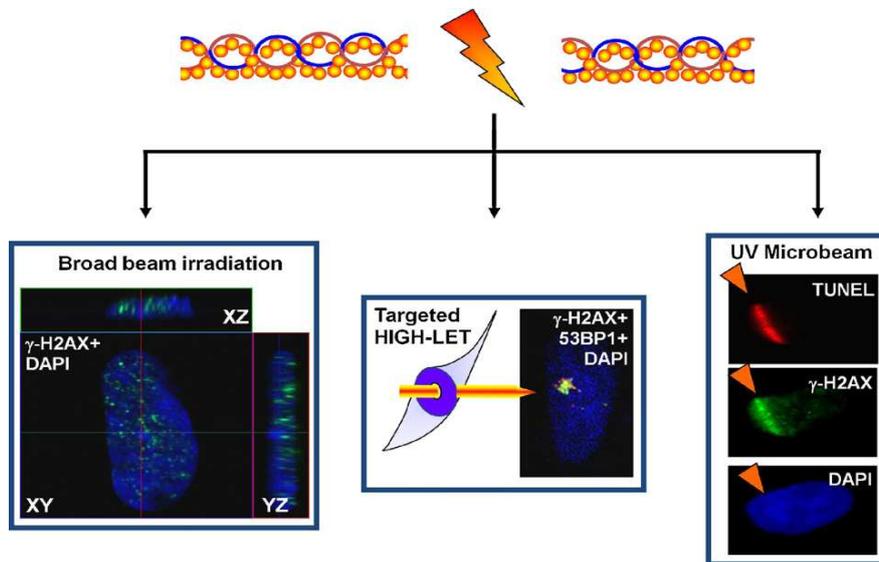
En parallèle, différents modèles empiriques ont été proposés pour tenter de modéliser la relation entre la dose d'exposition et les effets provoqués dans la cellule et ainsi interpréter les courbes de survie cellulaire. Le premier modèle est celui des cibles ("target Theory") initié par Lea dans les années 40 [Lea, 1946, Lea and Catchside, 1942]. Les courbes de survie cellulaire sont la représentation graphique de la survie cellulaire à une irradiation en fonction de la dose. Le postulat de la théorie des cibles considère qu'il existe des sites radiosensibles dans lesquels un certain niveau d'énergie déposée est nécessaire pour inactiver la cellule. Différentes versions de ce modèle existent avec notamment l'hypothèse qu'il faut toucher une ou plusieurs cibles dans la cellule [Bender and Gooch, 1962]. Le modèle "linéaire quadratique" est le modèle radiobiologique le plus connu et le plus utilisé. Il a été proposé dans les années 80 par Chadwick et Leenhouts [Chadwick and Leenhouts, 1973] dans le but d'améliorer le modèle des cibles. Les hypothèses faites sont les suivantes : l'ADN est la principale cible, les dommages critiques sont les cassures double-brins, l'irradiation peut provoquer des sublésions (lésions sublétales) et enfin, les sublésions peuvent être réparées. Ce modèle sera détaillé au paragraphe 5.1.3.1.

Pour donner une base plus rigoureuse à la modélisation des courbes cellulaires, Kellerer et Rossi ont proposé la théorie appelée "Theory of Dual Radiation Action" (TDRA) [Kellerer and Rossi, 1972]. C'est l'une des premières applications de la microdosimétrie à la radiobiologie. Elle utilise le concept de "sites", volumes identifiés comme sensibles aux radiations dans la cellule. Le premier postulat de cette théorie est celui de Lea et Catchside qui propose que le nombre de lésions létales infligées aux cellules est proportionnel au carré de l'énergie déposée dans la cellule. Cette théorie suppose qu'une lésion est produite par deux sublésions. Le modèle de TDRA a par la suite pris en compte une probabilité non uniforme de combinaison des sublésions (fonction de la distance) [Kellerer, 1978]. D'autres modèles ont été proposés tel que la "Microdosimetric-Kinetic" [Hawkins, 1994, Hawkins, 2001, Hawkins, 2003] ou encore les travaux de Santa Cruz sur la microdosimétrie des particules lourdes [Cruz et al., 2001a, Cruz et al., 2001b].

Le challenge actuel pour les radiobiologistes est de comprendre l'effet des radiations à faibles doses, en parallèle avec de nombreuses avancées telles que la compréhension de phénomènes biologiques (l'effet *bystander*, l'instabilité génomique, la réponse adaptative, les changements génomiques...). L'irradiation de cellules en utilisant des "*microbeams*" avec lesquels, on contrôle exactement la position de la dose déposée dans une cellule a permis de nombreuses avancées. Une récente revue de Schettino *et al.* [Schettino et al., 2010] explique notamment les études faites à différentes échelles : ADN, subcellulaire et tissulaire. La majorité de ces faisceaux proviennent d'accélérateurs de particules mais des *microbeams* d'électrons et de rayons-X ont aussi été développés. La figure 5.2-a illustre la différence entre une irradiation conventionnelle et une irradiation avec des *microbeams* où l'on peut cibler chaque cellule et même une zone précise de la cellule. La figure 5.2-b montre un exemple de résultats d'expérimentations biologiques avec des *microbeams*, où l'on visualise la localisation des dommages cellulaires.



a) Comparaison d'une irradiation conventionnelle avec une irradiation "microbeam" (capacité de délivrer une dose identique dans chaque cellule et grande précision dans la localisation de la dose).



b) Images de noyaux fixés et irradiés avec des γ (source de Cs), un microbeam d'ions He-3 (haut LET) et avec des UV + "Hoechst-laser micro-irradiation" de gauche à droite.

Figure 5.2 – Illustration des microbeams provenant de la revue de Schettino [Schettino et al., 2010].

En parallèle de ces évolutions expérimentales, les simulations Monte Carlo se sont développées tant au niveau physique pour la modélisation des interactions (distribution des dépôts d'énergie) qu'aux niveaux physico-chimique, chimique et biologique (dommages liés aux radicaux libres et stress oxydatif). Pendant l'irradiation, la quantité de radicaux libres présents naturellement dans les cellules est déséquilibrée (augmentée) à cause de la radiolyse de l'eau. Ce déséquilibre provoque un stress oxydatif qui peut induire la mort cellulaire par dénaturation des macro-molécules de la cellule comme par exemple l'ADN (lésions difficilement réversibles). C'est donc une succession d'étapes : physique (cartographie des ionisations et excitations), physico-chimique (production des radicaux libres), chimique (diffusion des espèces), biochimique (altération chimique des biomolécules) et enfin biologique (réparation des lésions) qu'il faut modéliser.

Différents codes Monte Carlo ont été développés pour simuler toutes ces étapes physiques, chimiques et biologiques [Friedland et al., 2003, Nikjoo et al., 2001]. Ces

codes calculent la distribution des excitations et ionisations à partir des sections efficaces de l'eau liquide [Dingfelder et al., 1998, Dingfelder et al., 2000] ou gazeuse [Rudd et al., 1985]. La distribution obtenue est superposée au modèle d'ADN utilisé. Les lésions de l'ADN peuvent donc être d'origine directe (superposition d'une ionisation avec l'ADN) ou indirecte (diffusion de radicaux libres sur l'ADN). Les mécanismes étant encore mal compris, les probabilités d'apparition de lésions sont basées sur des comparaisons entre des modèles prédictifs et des données expérimentales [Semenenko and Stewart, 2005, Semenenko et al., 2005]. Une publication très récente de Garty *et al.* [Garty et al., 2010] propose un modèle de nanodosimétrie pour lequel la distribution des ionisations et excitations n'est non pas simulée, mais dérivée de données expérimentales obtenues dans un petit volume de propane simulant une portion d'ADN cylindrique. L'utilisation de gaz à très basse pression permet d'étudier des dimensions très petites, le rapport entre le volume du gaz et le volume équivalent peut aller jusqu'à un facteur 10^6 . Là où la microdosimétrie standard étudiait l'énergie déposée dans un volume représentant le noyau cellulaire, la nanodosimétrie étudie les ionisations produites dans un volume de la dimension de l'ADN [Garty et al., 2002, Shchemelinin et al., 1999].

La modélisation des processus physiques dans un milieu biologique (hétérogène) à l'échelle de l'ADN, c'est-à-dire à l'échelle nanométrique, est un vrai challenge. Le projet "Geant4-DNA" propose de développer un code Monte Carlo pour simuler les lésions biologiques induites par des particules ionisantes aux échelles cellulaire et subcellulaire pour des applications non-restreintes à des domaines particuliers et en "open-source". Historiquement, le projet a démarré en 2001 avec le Dr P. Niemenen au "European Space Agency" pour le développement de l'étude des effets biologiques induits par les rayonnements ionisants avec comme thématique, les futures longues explorations du système solaire. Chauvie et ses collaborateurs [Chauvie et al., 2007] ont récemment publié l'implémentation de procédures décrivant les processus physiques relatifs à la microdosimétrie dans GEANT4 (Geant4 Low Energy Electromagnetic package). Des améliorations de ce code ont été publiées par la suite [Champion et al., 2009, Francis et al., 2009, Incerti et al., 2009]. Le projet est maintenant entièrement développé et géré par "Geant4-DNA collaboration". Le but du projet est de pouvoir simuler les lésions induites par des particules ionisantes tant au niveau physique (distribution de l'énergie) qu'au niveau chimique, biochimique et biologique (cellulaire et moléculaire), ainsi que de valider ce code expérimentalement.

Nous verrons plus en détail ci-dessous, les différentes notions suivantes : les modèles biologiques de survie cellulaire avec notamment le modèle linéaire quadratique (LQ), la notion de transfert d'énergie linéique (TEL), de compteurs proportionnels utilisés pour la microdosimétrie, et enfin, le formalisme microdosimétrique proposé par Rossi et Kellerer et un modèle biologique en découlant (TDRA).

5.1.3 Modèles biologiques

Deux modèles biologiques seront présentés : le modèle des cibles ainsi que le modèle linéaire quadratique couramment utilisé pour les besoins de la radiothérapie. Les modèles biologiques sont importants pour étudier ou prédire l'efficacité d'un traitement (par exemple, le fractionnement temporel pour obtenir un effet différentiel entre deux types cellulaires, cf chapitre 1).

5.1.3.1 Modèle des cibles ou "Target theory"

Ce modèle dérive du postulat de Lea *et al.* [Lea, 1946] qui indique qu'il existe au sein d'une cellule des sites radiosensibles (cibles) dans lesquels une certaine énergie déposée entraîne la mort cellulaire. Trois modèles dérivent de ce postulat :

- Modèle à 1 cible létale
- Modèle à n cibles sublétales
- Modèle à deux composantes : 1 cible létale et n cibles sublétales.

Le modèle à 1 cible létale correspond à une cible qui peut être inactivée en un coup et ne peut pas se réparer. On parle du modèle “linéaire” et la survie cellulaire s’exprime comme suit :

$S = e^{-\frac{D}{D_0}}$, avec D_0 la dose pour laquelle le nombre moyen d’évènement est 1, c’est la dose moyenne létale. Pour D_0 , le taux de survie vaut 37% (1/e).

Le modèle à n cibles sublétales correspond à une cellule possédant n structures vitales radiosensibles (cibles) où chaque cible peut être inactivée par un seul coup et où la mort de la cellule survient lorsque les n cibles sont inactivées. Les cibles peuvent se réactiver tant que toutes ne sont pas atteintes (réparation des sublésions). La survie cellulaire s’exprime comme suit :

$$S = 1 - (1 - e^{-\frac{D}{D_0}})^n$$

avec D_0 la dose moyenne létale.

Le modèle à deux composantes [Bender and Gooch, 1962] est décrit comme suit :

$$S = e^{-\frac{D}{D_1}} (1 - e^{-\frac{D}{D_2}})^n$$

avec D_1 la dose létale pour la composante à 1 cible létale et D_2 la dose létale pour la composante à n cibles sublétales.

Les courbes de survie cellulaire correspondant aux trois modèles sont représentées figure 5.3.

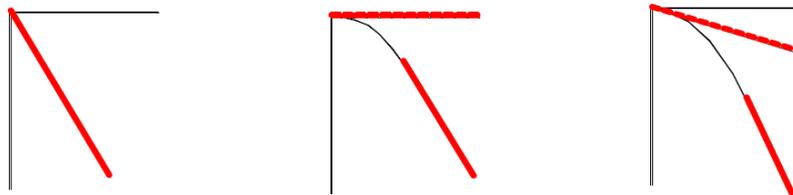


Figure 5.3 – Illustrations de l’allure des courbes de survie (survie en logarithme en fonction de la dose) des 3 modèles de cibles, avec en partant de la gauche : le modèle à 1 cible létale, le modèle à n cibles sublétales et le modèle à deux composantes.

5.1.3.2 Modèle linéaire quadratique (LQ)

Le formalisme du modèle LQ proposé initialement par Chadwick *et al.* est présenté dans le paragraphe suivant [Chadwick and Leenhouts, 1973]. Une autre explication du modèle proposée par Brenner [Brenner, 2008] sera aussi présentée. La formulation simple du modèle LQ correspond au cas d’une irradiation en une fraction d’un modèle cellulaire dans une géométrie donnée. On peut étendre ce modèle à des modèles plus complexes (insérer différents facteurs) pour par exemple, prendre en compte le temps (fractionnement temporel d’un traitement). Ce facteur sera détaillé dans un paragraphe dédié ci-dessous. On verra ensuite la limite de ce modèle vis-à-vis d’une technique de radiothérapie récente (la radiothérapie stéréotaxique) qui utilise des doses fractionnées élevées. Enfin, un paragraphe sera consacré aux principales critiques faites de ce modèle.

Ce modèle suppose que :

- les molécules d'ADN sont les éléments primordiaux de la cellule pour expliquer les effets des radiations puisque l'intégrité de l'ADN est nécessaire pour préserver la capacité reproductrice des cellules,
- les dommages critiques à cette molécule sont les cassures double-brins qui constituent des lésions létales pour la cellule,
- le rayonnement ionisant peut également casser les liaisons moléculaires dans la double hélice, provoquant les lésions sublétales de l'ADN,
- les lésions peuvent être réparées, et les modifications résultantes peuvent provenir de différents types de réparations (recombinaisons physico-chimiques, restitutions chimiques, réparations enzymatiques, etc.).

Le modèle est décrit par l'équation suivante :

$$S = S_0 \times e^{-\alpha D - \beta D^2} \quad (5.1)$$

avec D la dose, S la survie cellulaire (S_0 la survie sans irradiation) et α et β des constantes.

Une courbe de survie typique a généralement une forme parabolique dans une représentation semi-logarithmique comme le montre la figure 5.4. Plusieurs tentatives ont été faites pour donner au modèle LQ une base théorique. La plus courante consiste à relier les composantes linéaire et quadratique respectivement aux événements à une seule trace (passage d'une particule) ou aux événements à deux traces. Selon cette interprétation la mortalité cellulaire peut résulter :

- soit de l'action d'une seule trace provoquant une lésion létale
- soit de l'action de deux traces indépendantes provoquant deux lésions sublétales. Cela suppose que les deux événements sont suffisamment proches dans le temps et l'espace pour que la combinaison conduise finalement à la mort de la cellule.

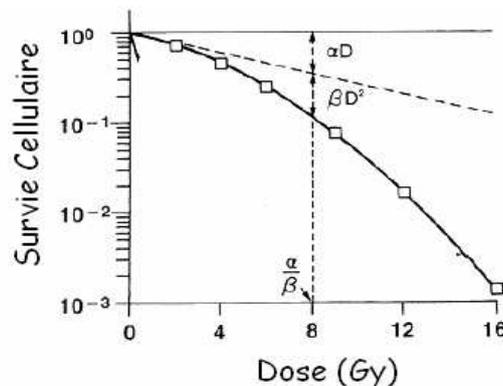


Figure 5.4 – Courbe de survie obtenue avec le modèle linéaire quadratique. Le rapport des coefficients des deux composantes, α / β , représente la dose pour laquelle les effets linéaires et les effets quadratiques sont égaux.

Modèle de Chadwick *et al.* Ci-dessous est présentée l'explication de Chadwick lui-même sur son modèle. La composante linéaire correspond à la production de cassures simple-brin directement létales pour la cellule. La composante quadratique correspond aux lésions conduisant directement ou indirectement à des cassures double-brins.

Composante représentant les cassures simple-brin Soit N_0 , le nombre de sites par unité de masse qui conduisent à une cassure de l'ADN s'ils sont touchés et N le nombre

de sites non-touchés.

k , est la probabilité par site et par unité de dose que ce site soit endommagé et D , la dose.

Alors,

$$dN/dD = -kN \text{ et } N = N_0 \times e^{-kD}$$

et le nombre de cassures est :

$$N_0 - N = N_0 \times (1 - e^{-kD})$$

Soit r , la proportion de sites endommagés, puis réparés, alors, $(1-r) = f$ est la proportion de sites non-réparés.

Le nombre moyen de cassures de l'ADN est donc :

$$fN_0 \times (1 - e^{-kD})$$

Composante représentant les cassures double-brins (DSB)

Deux modes d'actions peuvent être différenciés :

- les deux cassures proviennent d'une seule trace (mode d'action A),
- chaque cassure provient de traces indépendantes (mode d'action B).

Pour le mode d'action B, deux cassures sur les brins 1 et 2 doivent être produites. Soit n_1 le nombre de sites par cellule pouvant conduire à une subléSION sur le brin 1 et n_2 le nombre de sites par cellule pouvant conduire à une subléSION sur le brin 2. On a donc $n_1 = n_2$. k est la probabilité par site et par unité de dose que ce site soit endommagé et f_1 et f_2 les proportions de sites endommagés sur chaque brin non réparé. Δ est la proportion de la dose qui inactive les sites par le mode d'action A, et $(1 - \Delta)$ la proportion pour le mode B. C'est ce Δ qui est dépendant du TEL.

Le nombre de sites endommagés sur le brin 1 est :

$$f_1 \times n_1 \times (1 - e^{-kD(1-\Delta)})$$

sur le brin 2 :

$$f_2 \times n_2 \times (1 - e^{-kD(1-\Delta)})$$

Soit ϵ , la proportion de ces cassures se combinant et produisant une DSB. Le nombre moyen de DSB par cellule est :

$$\epsilon \times f_1 f_2 n_1 n_2 \times (1 - e^{-kD(1-\Delta)})^2$$

Le mode d'action A s'exprime somme suit :

$$n_0 \times (1 - e^{-k_0 \Delta D})$$

avec n_0 le nombre de sites pour ce mode d'action ($n_0 \leq n_1, n_2$) et k_0 la probabilité par site et par dose de la formation d'une DSB.

Le nombre moyen de DSB pour une dose D est :

$$n_0 \times (1 - e^{-k_0 \Delta D}) + \epsilon \times f_1 f_2 n_1 n_2 \times (1 - e^{-kD(1-\Delta)})^2$$

Si f_0 est la probabilité que les DSB ne soient pas réparés et si E est la probabilité, suivant une loi de Poisson, de la mort cellulaire en fonction de la dose, alors :

$$E(D) = 1 - e^{-pf_0 \times (n_0 \times (1 - e^{-k_0 \Delta D}) + \epsilon \times f_1 f_2 n_1 n_2 \times (1 - e^{-kD(1-\Delta)})^2)}$$

avec p la probabilité de relier DSB avec mort cellulaire.

La survie cellulaire S est donnée par :

$$S = 1 - E = e^{-pf_0 \times (n_0 \times (1 - e^{-k_0 \Delta D}) + \epsilon \times f_1 f_2 n_1 n_2 \times (1 - e^{-kD(1-\Delta)})^2)}$$

Puisque k et k_0 sont très petits, on peut alors faire l'approximation suivante :

$$S = e^{-pf_0 \times n_0 \times k_0 \times \Delta \times D} \times e^{-pf_0 \times \epsilon \times f_1 f_2 n_1 n_2 \times k^2 (1-\Delta)^2 D^2} = e^{-\alpha D - \beta D^2}$$

avec

$$\alpha = p \times f_0 \times n_1 \times k_0 \times \Delta$$

et

$$\beta = p \times f_0 \times \epsilon \times n_1 \times n_2 \times f_1 \times f_2 \times k^2 \times (1 - \Delta)^2$$

Explication de Brenner du modèle LQ Une explication un peu différente a été proposée récemment par Brenner [Brenner, 2008] :

- l'irradiation provoque un nombre de cassures double-brins (DSB) proportionnel à la dose
- ces DSB peuvent être réparées avec un taux constant λ ($\lambda = \frac{\ln 2}{T_{1/2}}$, avec $T_{1/2}$ la période de demi-réparation). En pratique différents type de DSB supposent différents taux de réparation.
- en parallèle avec les réparations, la combinaison de DSB mal réparées provenant de différentes traces peuvent produire des lésions létales, cette composante apparaît proportionnellement à la dose au carré et dépend du temps (combinaison de deux traces différentes).
- des lésions létales dues à de nombreux autres mécanismes peuvent être induites directement par une seule trace. Cette composante apparaît proportionnellement à la dose.

Paramètre temps, fractionnement du traitement Soit G le facteur temps généralisé de Lea-Catcheside qui prend en compte de manière quantitative le fractionnement temporel [Brenner, 2008].

La survie S s'exprime comme suit :

$$S = e^{-\alpha D - \beta G D^2}$$

et

$$G = \frac{2}{D^2} \int_{-\infty}^{+\infty} D_e(t) dt \int_{-\infty}^t e^{-\lambda(t-t')} D_e(t') dt'$$

avec D_e représentatif de la variation du débit de dose durant la radiothérapie, et λ représentant le taux de réparation.

La seconde intégrale correspond à la première DSB nécessaire pour produire une lésion létale. Le terme exponentiel représente la diminution du nombre de DSB due aux

réparations. La première intégrale représente les DSB pouvant interagir avec les premières n'ayant pas été réparées.

Si l'on considère le cas particulier de n irradiations séparées par un temps vraiment long T , alors $G=1/n$ et $S=e^{-\alpha D-\frac{\beta}{n}D^2}$. Le facteur G peut être calculé pour n'importe quel schéma d'irradiation.

Explications du facteur $1/n$:

si l'on effectue une série de n irradiations de dose d , alors :

$$S = e^{-\alpha d-\beta d^2} \times e^{-\alpha d-\beta d^2} \times e^{-\alpha d-\beta d^2} \times \dots$$

soit

$$S = (e^{-\alpha d-\beta d^2})^n = e^{-\alpha nd-\beta nd^2}$$

on a

$$D = n \times d$$

donc

$$S = e^{-\alpha D-\frac{\beta}{n}D^2}$$

Extrapolation des effets aux fortes doses, application à la radiothérapie stéréotaxique “Peut-on extrapoler les effets d'une irradiation à haute dose (telle qu'utilisée en radiothérapie stéréotaxique) à partir du modèle basé sur des données obtenues à faible dose?”

Le but est de pouvoir extrapoler des régimes d'irradiation à équi-effet à partir des standards. Les courbes de survie cellulaire étant généralement définies jusqu'à environ 7-10 Gy, il est difficile de pouvoir prédire la réponse au traitement pour des doses plus élevées et de considérer le modèle comme valide pour ces fortes doses. Par exemple, on peut utiliser des fractionnements de dose jusqu'à environ 7 Gy pour la prostate [Fowler et al., 2003], jusqu'à 15 Gy pour les cancers du poumon “non à petites cellules” [Prevost et al., 2008] et jusqu'à 30 Gy pour le cerveau.

Garcia *et al.* [Garcia et al., 2006] ont étudié la qualité de l'ajustement entre les données expérimentales et le modèle linéaire quadratique en utilisant des mesures de colonies pour estimer la survie cellulaire. La qualité de l'ajustement (χ^2) est relativement constante jusqu'à 15 Gy et chute après 16 Gy. Le modèle LQ semble donc bien fonctionner jusqu'à 15 Gy pour cette étude.

Utilisation du modèle LQ pour les études *in vivo*, problème des fortes doses par fractions Pour comparer le modèle LQ avec des données *in vivo*, on étudie les courbes d'iso-effet (l'inverse de la dose standard équivalente en fonction de la dose par fraction utilisée). Si les données correspondent au modèle linéaire quadratique, les points suivront une droite. Barendsen *et al.* [Barendsen, 1982] ont testé la concordance entre le modèle LQ et des doses allant de 2 à 20 Gy. Les travaux de Guerrero *et al.* [Guerrero and Li, 2004] reprennent ces données, ils proposent un modèle LQ modifié (LQM) donnant une pente constante des courbes de survie cellulaire pour les hautes doses qui semblerait mieux décrire les courbes d'iso-effet (cf figure 5.5). Les deux modèles comparés ici concordent bien avec les points expérimentaux. Cependant, les différences que l'on obtiendrait entre les deux modèles avec des doses par fraction plus élevées montre l'importance d'avoir un modèle validé aux fortes doses. Par exemple, si l'on considère les courbes pour l'os (bleu)

et des doses par fractions de 12 Gy, l'inverse de la dose équivalente entre les deux modèles sera significativement différente entre les deux modèles (16×10^{-2} et $20 \times 10^{-2} \text{ Gy}^{-1}$).

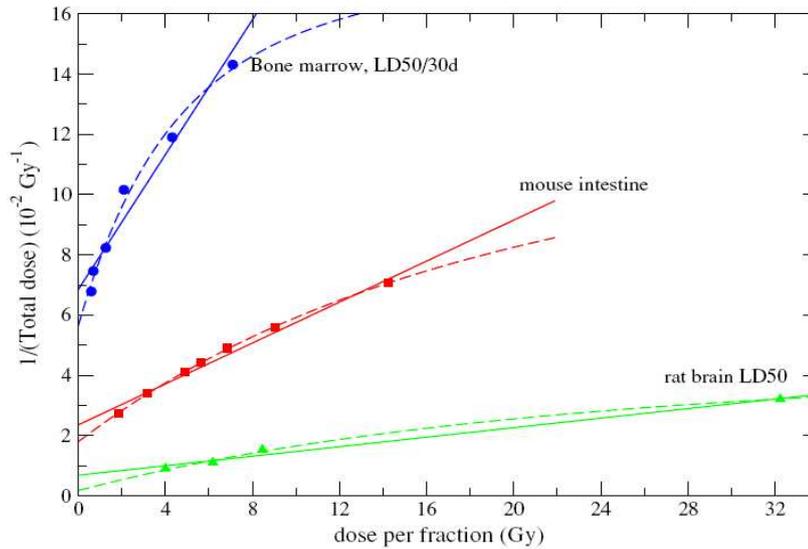


Figure 5.5 – Comparaison des courbes d’iso-effet obtenues avec le modèle LQ (trait plein) et le LQM (pointillés) proposé par Guerrero *et al.* [Guerrero and Li, 2004]

Critiques du modèle Comme tout modèle, le modèle LQ est sujet à de nombreuses critiques. Zaider *et al.* [Zaider, 1998] suggèrent que le modèle LQ est pratique mais s’avère “chanceux” que la distribution des cellules tuées pour une dose suive une distribution de Poisson. Cette distribution est critiquée par Curtis et Sanchez-Reyes [Sánchez-Reyes, 1992, Curtis, 1986] pour les irradiations à haut TEL et les fortes doses à bas TEL, quand la courbe de survie cellulaire devient indépendante du débit. Cependant Sachs et Brenner [Sachs and Brenner, 1998] ont montré que pour les énergies utilisées en radiothérapie, les hypothèses faites dans le modèle LQ sont raisonnables.

L’efficacité des différentes fractions considérée comme constante dans le temps d’un traitement est aussi étudiée et critiquée [Travis *et al.*, 1983, Haston *et al.*, 1994].

L’irradiation à faible dose (radiologie) ou à faible dose par fraction doit être utilisée avec précaution. Du point de vue clinique, Taylor *et al.* [Taylor *et al.*, 1988] ont suggéré que le modèle LQ sous-estimait les dommages à faible dose.

Remarques : Dans le modèle linéaire quadratique,

- Le rapport des coefficients des deux composantes α / β , représente la dose pour laquelle les effets linéaires et les effets quadratiques sont égaux. Ce rapport est un indice important qui varie selon le type de cellules. α/β est grand (10 Gy) pour les réactions précoces des tissus normaux (faible capacité de réparation, faible influence de la dose par fraction, ou du nombre de fractions, ou du débit de dose) et α/β est petit (1 - 4 Gy) pour les réactions tardives (grande capacité de réparation, grande influence de la dose par fraction, ou du nombre de fractions, ou du débit de dose). Les valeurs absolues de α pour les réactions précoces et tardives sont du même ordre de grandeur, mais les valeurs de β sont plus élevées pour les réactions tardives.
- Le taux de réparation des sublésions est d’environ 1 h^{-1} pour les tissus à réaction précoce et entre $0.3\text{--}0.9 \text{ h}^{-1}$ pour les tissus à réaction tardive.

- Le “Biological effective dose” (BED) est déduit du modèle LQ et correspond à la dose permettant d’obtenir le même effet qu’une référence.

Remarque vis-à-vis des courbes de survie cellulaire (limitation en dose) : Au niveau des études *in vitro*, il n’est pas évident d’obtenir des mesures précises pour des fortes doses puisque la survie des cellules est très faible. Une approche récente consiste non pas à compter les colonies d’un test clonogénique mais à utiliser la cytométrie de flux, qui permet de caractériser l’ADN des cellules. Cette approche permet non seulement d’évaluer l’effet des fortes doses, mais aussi d’obtenir des résultats avec une bien meilleure statistique. Par exemple, Bartkowiak *et al.* [Bartkowiak et al., 2001] ont obtenu des courbes pour des cellules CHO suivant le modèle LQ avec une statistique élevée (jusqu’à 7 Gy, cf figure 5.6).

Pour ce test, les cellules sont incubées en présence d’un réactif fluorescent, spécifique d’un composant cellulaire (ADN, ARN¹) ou d’une protéine (anticorps marqués). Ensuite, la fluorescence est mesurée lors du passage des cellules devant le faisceau laser du cytomètre en flux. L’utilisation d’une technique de marquage de l’ADN, grâce à une molécule qui s’intercale dans l’ADN (par exemple, l’iodure de propidium) permet de quantifier la proportion de cellules en phase S (prolifération). Il s’agit dans ce cas des mêmes cellules que celles quantifiées par tests clonogéniques (cellules proliférantes).

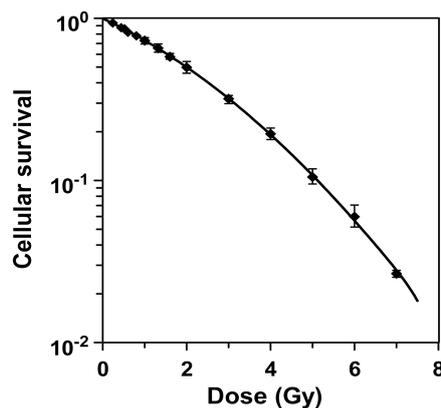


Figure 5.6 – Courbe de survie, de cellules CHO irradiées avec des rayons-X, déterminée par comptage de population par cytométrie de flux 5 jours après irradiation [Bartkowiak et al., 2001].

5.1.4 Transfert d’énergie linéique (TEL)

Le TEL est défini dans le rapport de l’ICRU 49 comme étant le rapport dE/dl où dE est l’énergie moyenne localement impartie au milieu par une particule d’énergie E traversant le milieu de longueur dl . Le TEL est, en général, exprimé en $keV/\mu m$. Il existe deux TEL différents : TEL_{∞} et TEL_{Δ} . Si le volume dans lequel on calcule le TEL est grand, la valeur du TEL ne sera pas constante dans le volume. En première approximation, le TEL peut être assimilé au pouvoir de ralentissement total $-dE/dx$. Il dépend de la caractéristique de la particule (énergie et élément) et d’autre part de la nature du milieu traversé. On parle du TEL_{∞} . Si le volume est trop petit, le concept d’une seule trace comme étant une ligne doit être remplacé par une ligne avec des ramifications. Certaines traces, appelées Δ peuvent sortir du volume et être exclues de la définition du TEL restreint, TEL_{Δ} . On peut définir le seuil d’énergie minimale Δ des électrons d’ionisation dont les trajectoires

1. Acide ribonucléique.

se différencient de la trajectoire de la particule incidente : alors, tous les électrons dont $E > \Delta$ sont nommés électrons δ . Ils se comportent comme des particules secondaires distinctes. En général, Δ est fixée à 100 eV.

La limitation fondamentale du TEL est que cette grandeur est basée sur une moyenne d'une perte d'énergie qui fluctue. Comme indiqué par l'existence du Relative Biological Effectiveness "RBE", qui permet de faire le lien en terme d'effet biologique entre une même dose délivrée par deux rayonnements différents, les systèmes biologiques ne répondent pas linéairement à la concentration en énergie locale. Pour corrélérer des effets biologiques vis-à-vis des radiations ionisantes, il est nécessaire de connaître la distribution en énergie absorbée.

Ce sont les fluctuations de l'énergie déposée qui sont prises en compte dans les quantités stochastiques de la microdosimétrie.

5.1.5 Compteurs proportionnels micrométriques et nanométriques

Un compteur proportionnel contenant du gaz équivalent tissu et une paroi "équivalent tissu" en plastique permet de mesurer le spectre en énergie linéique d'un rayonnement. Ce spectre représente l'énergie déposée par évènement, divisée par le parcours moyen des particules dans la chambre. En faisant varier la pression du gaz, on peut faire varier l'épaisseur équivalente de tissu. Il est aussi possible d'utiliser un compteur avec des parois contenant différents matériaux tels que du bore pour l'étude de la Boron Neutron Capture Therapy (BNCT) [Hsu et al., 2009]. Ainsi, il a été montré que l'on pouvait obtenir des dimensions équivalentes de 1 nm à 4 nm en diamètre et jusqu'à 100 nm en longueur [Schulte et al., 2003] pour étudier la distribution de l'énergie dans une molécule telle que l'ADN.

Le spectre microdosimétrique ou "spectre en énergie linéique" indique, pour une particule définie, la probabilité qu'elle interagisse avec une énergie linéique " y " exprimée en keV/ μ m.

5.1.6 Formalisme de la microdosimétrie proposé par Rossi et Kellerer

Deux approches sont possibles pour la microdosimétrie. La première est de s'intéresser à un volume cible (typiquement une sphère de 1 μ m de diamètre) et d'étudier numériquement ou expérimentalement (à l'aide d'un compteur proportionnel) l'énergie déposée dans celui-ci pour un certain nombre d'évènements. L'approche numérique dans ce cas nécessite la simulation d'un grand nombre de particules dont seulement une partie de leur trace traversera le volume cible. La seconde approche consiste à simuler une ou plusieurs traces et d'étudier les variables dosimétriques le long de ces traces. Cette deuxième approche suppose l'échantillonnage du milieu mais est moins coûteuse en temps de simulation de trace (une trace peut suffire).

5.1.6.1 Variables microdosimétriques

Les transferts d'énergie sont discrets dans l'espace et dépendent des phénomènes d'interaction des particules. Il est nécessaire de les connaître pour décrire la distribution d'énergie initiale des particules chargées. La quantité de base est le dépôt d'énergie, ϵ_i , qui représente le transfert d'énergie au cours de l'interaction i au point de transfert T_i (appelée énergie impartie). La trace d'une particule chargée dans un milieu donné est

donc caractérisée par un ensemble de points de transfert et les variables microscopiques associées telles que l'énergie impartie ϵ_i .

Variables définies pour un évènement :

- **l'énergie impartie** ϵ_i pour un évènement (en keV),

$$\epsilon_i = \epsilon_{in} - \epsilon_{ex} + Q$$

avec ϵ_{in} , l'énergie qui entre dans le volume, ϵ_{ex} , l'énergie qui ressort du volume et Q la variation d'énergie de masse de toutes les particules et atomes impliqués dans l'interaction.

- **l'énergie spécifique** z_i

$z_i = \epsilon_i/m$, avec m la masse du volume considéré, s'exprime en Gray)

- **l'énergie linéique** y_i

ϵ_i/l , avec l la longueur moyenne de la corde du volume considéré, s'exprime en keV/ μm .

Pour une sphère, $l = \frac{2}{3}d$, avec d le diamètre et $l = \frac{4V}{a}$ pour un volume convexe où a est l'aire de la surface et V le volume.

L'énergie spécifique et l'énergie linéique sont étroitement liées, on a, pour une sphère de diamètre d et un matériau de densité 1 :

$$z_i(Gy) = \frac{0.204 y_i(kev/\mu m)}{d^2(\mu m)}$$

Les spectres microdosimétriques représentent les fluctuations de l'énergie linéique y pour un évènement (noté $f_1(y)$). Les spectres microdosimétriques fondamentaux sont parfois représentés en échelle semi-log avec l'ordonnée multipliée par y de sorte que la surface située sous la courbe délimitée par deux valeurs de y soit proportionnelle à la fraction des événements produits pour ces valeurs de y .

- **l'énergie spécifique moyenne** \overline{z}_F , se calcule comme suit :

$$\overline{z}_F = \int_0^{\infty} z \cdot f_1(z) dz$$

Avec $f_1(z)$ la **distribution unitaire de l'énergie spécifique** (pour un seul évènement).

- **distribution unitaire en dose de l'énergie spécifique** $d_1(z)$

La fraction $\frac{z \cdot f_1(z) \cdot dz}{\overline{z}_F}$ est la contribution à la dose D des événements déposant une énergie spécifique comprise entre z et $z+dz$.

On a donc :

$$d_1(z) = \frac{z \cdot f_1(z)}{\overline{z}_F}$$

De la même manière que l'on peut calculer l'énergie spécifique en moyenne déposée (\overline{z}_F), on peut calculer l'énergie spécifique des événements qui contribuent en moyenne le plus à la dose (\overline{z}_D).

$$\overline{z}_D = \int z d_1(z) dz = \int z \cdot \frac{z \cdot f_1(z)}{\overline{z}_F} dz = \frac{\overline{z}_F^2}{\overline{z}_F}$$

La figure 5.7 représente la contribution à la dose suivant l'énergie linéique des événements pour une faisceau de Cobalt, et des faisceaux de 10 et 15 MeV [Amols and Zellmer, 1984]. Almols *et al.* ont par exemple obtenu, pour le faisceau de Colbalt, $\overline{y}_D = 2.24 \pm$

$0.17 \text{ keV}/\mu\text{m}$ et $\overline{y_F} = 0.42 \pm 0.02 \text{ keV}/\mu\text{m}$. Ce qui veut dire qu'en moyenne les particules incidentes ont une énergie linéique de $0.42 \text{ keV}/\mu\text{m}$ mais qu'en moyenne les événements qui participent le plus à la dose ont une énergie linéique de $2.24 \text{ keV}/\mu\text{m}$.

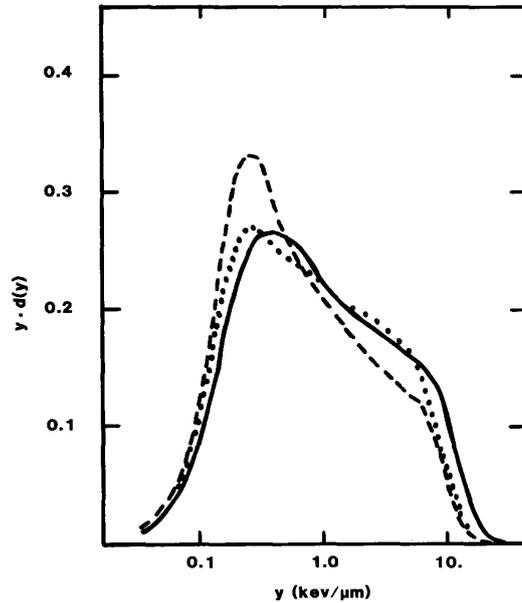


Figure 5.7 – La contribution à la dose suivant l'énergie linéique des événements pour une faisceau de Cobalt (trait plein) et des faisceaux de 10 MeV (trait d'union) et de 15 MeV (pointillés)[Amols and Zellmer, 1984].

Si on considère plusieurs événements dans un même site :

– Le **nombre d'événements** n :

Soit D , la dose déposée dans un volume, alors :

$$n = \frac{D}{z_F}$$

Si $f(z=0, D)$ est la probabilité que pour une dose D il n'y ait pas d'événement dans le site, alors :

$$f(z = 0, D) = e^{-\frac{D}{z_F}}$$

– **Distributions pour plus d'un événement :**

Pour une dose D élevée, soit un grand nombre d'événements, la fonction de probabilité $f(z, D)$ des valeurs de z pour une dose D forme une courbe en cloche resserrée autour de D . Les caractéristiques obtenues pour un faisceau de Cobalt sont représentées figure 5.8 pour des doses incrémentées et un volume cible de $1 \mu\text{m}$ de diamètre.

On a :

$$D = \int_0^{\infty} z f(z, D) dz$$

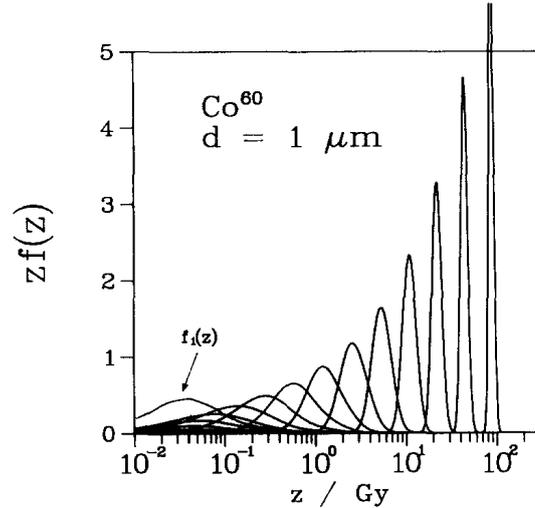


Figure 5.8 – Spectres multi-événements $f(z,D)$ pour un faisceau de Cobalt dans un volume de $1 \mu\text{m}$ de diamètre. La dose totale déposée (et ainsi le nombre d'événements) augmente de gauche à droite. Le spectre le plus à droite correspond à une dose de 89 Gy [Rossi and Zaider, 1991].

A partir de la distribution unitaire, on peut calculer les distributions pour n événements.

Par exemple, si l'on connaît la distribution unitaire $f_1(z)$, on peut calculer $f_2(z)$, c'est-à-dire la distribution en énergie spécifique pour deux événements simples, indépendants et superposés. De façon générale, $f_\nu(z)$ est la distribution de ν événements simples indépendants.

Considérons d'abord, de façon discrète, la probabilité d'obtenir une énergie spécifique z avec exactement deux événements simples :

$$P(z \mid \nu = 2) = P(z_a).P(z_b), \text{ avec } z_a + z_b = z$$

où z_a et z_b sont les énergies spécifiques déposées lors du premier et second événement simple respectivement. Puisqu'il y a plusieurs valeurs de z_a pouvant satisfaire cette équation, la probabilité cherchée est la somme des probabilités sur toutes les valeurs possibles de z_a :

$$P(z \mid \nu = 2) = \sum_{z_a} P(z_a) \times P(z - z_a)$$

La variable aléatoire z est la somme des deux variables aléatoires indépendantes z_a et z_b , sa distribution est la convolution de leurs distributions. Par conséquent, il est possible de calculer la distribution de $f_2(z)$ en convoluant deux distributions unitaires $f_1(z)$. En poursuivant le raisonnement, la distribution d'énergie spécifique pour trois événements sera la convolution entre $f_2(z)$ et $f_1(z)$; et pour ν événements, on aura :

$$f_\nu(z) = f_1(z) \otimes f_{\nu-1}(z)$$

5.1.6.2 Analyse des trajectoires simulées, microdosimétrie structurale

Kellerer *et al.* [Kellerer and Chmelevsky, 1975a, Kellerer and Chmelevsky, 1975b, Kellerer and Chmelevsky, 1975c] ont étudié les traces de particules traversant un volume

défini (ou région échantillonnée). Cette nouvelle approche s'intéresse donc aux sous-volumes du milieu irradié, pour lesquels sont associées des coordonnées, et une valeur de ϵ , z , y et n . Ces valeurs dépendent de la position et de la taille du sous-volume (généralement une sphère de rayon r).

Une première étape, avant d'étudier les valeurs microdosimétriques attribuées à un point aléatoirement positionné dans le milieu, est de distribuer l'énergie dans l'ensemble du milieu. Les simulations Monte Carlo permettent, dans un premier temps, de définir les points de transfert puis, dans un second temps, d'appliquer un modèle de diffusion de cette énergie pour prendre en compte le transport de l'énergie. Cette diffusion comprend la diffusion au sens physique du terme des particules ionisantes mais aussi la diffusion liée au transport de l'énergie par les radicaux libres ou espèces chimiques radio-induites, ou encore des mouvements intra-cellulaire des sublésions.

En considérant que l'énergie est impartie à des points discrets du milieu irradié appelés points de transfert T_i , alors ϵ_i est l'énergie transmise au point de transfert i . Une interprétation possible est la diffusion des énergies ϵ_i dans le milieu de manière uniformément répartie dans des sphères de rayon r centrées sur les points de transfert. Le volume total que représente les sphères centrées sur les points de transfert est appelé "Volume associé". Une autre interprétation sera de redistribuer l'énergie des points de transfert en considérant des processus de dissipation qui conduiraient à une distribution de l'énergie autour des points de transfert plus floue qu'homogène (cf illustration figure 5.9).

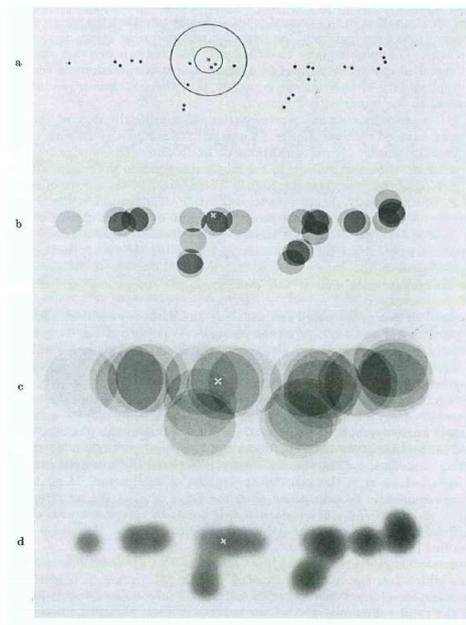


Figure 5.9 – Diagramme schématique de la forme du dépôt d'énergie microscopique, d'après Kellerer et Chmelevsky [Kellerer and Chmelevsky, 1975a]. a) Représentation des points de transfert par des points. La croix représente un point aléatoirement choisi entouré de deux cercles de rayons différents. b) Distribution locale résultant de la dissipation de l'énergie dans les petites sphères. c) Dissipation de l'énergie dans les grandes sphères. d) Distribution pondérée de l'énergie, dissipation floutée.

Énergies en un point quelconque P L'énergie impartie ϵ_r à un point P (sphère centrée en P) choisi aléatoirement dans le milieu est la somme de tous les transferts ϵ_i appartenant aux points de transfert inclus dans la sphère centrée en P. On peut faire soit une somme pondérée des énergies imparties soit la somme des *overlaps* qui correspond au

nombre d'ionisations (si on suppose qu'un *overlap* correspond à une ionisation).

L'énergie spécifique z attribuée à un point P quelconque du milieu est la somme des énergies transférées à l'intérieur de la région étudiée divisée par la masse de la région.

On peut formaliser la relation entre les variables discrètes ϵ_i aux variables ϵ_r et z_r comme suit :

$$z_r = \frac{1}{\rho} \sum_i \epsilon_i h(|x - x_i|)$$

avec ρ la masse volumique du milieu, x_i la coordonnée d'un point de transfert i , x la coordonnée du point considéré dans le milieu et $h(x)$ la fonction de dissipation.

Si on considère une distribution uniforme de l'énergie, alors :

$$h(x) = 1/V_r \text{ pour } x \leq r, \text{ et } h(x) = 0 \text{ pour } x > r.$$

Si on considère une distribution pondérée de l'énergie, suivant par exemple une gaussienne, alors :

$$h(x) = e^{-\frac{x^2}{V}}$$

avec

$$V = \int_0^\infty 4\pi x^2 e^{-x^2/r^2} dx = \pi^{3/2} r^3$$

5.1.6.3 Variables microdosimétriques et probabilités de distribution

Pour déterminer les probabilités de distribution ou variables microdosimétriques à partir de simulations, il faut déterminer les variables microdosimétriques en différents points dans la région étudiée ; on parle de "sampling point" ou points d'échantillonnage.

Si on sélectionne aléatoirement et uniformément différents points dans la région étudiée on peut obtenir directement la probabilité de distribution de z (distribution en fréquence de l'énergie spécifique), conventionnellement notée $f(z)$.

$f(z)dz$ correspond à la fraction du volume total ayant une énergie spécifique comprise entre z et $z+dz$.

Si on utilise un facteur pondéré en fonction de z pour les points échantillonnés, on obtient $d(z)$ et non $f(z)$.

$d(z)dz$ correspond à la probabilité de trouver une énergie spécifique entre z et $z+dz$ si on applique la procédure d'échantillonnage. Avec cette technique d'échantillonnage, des points sont choisis au hasard mais seulement au voisinage de points de transfert et ceci avec une probabilité proportionnelle à l'énergie de ce point de transfert. En détail, l'algorithme est le suivant :

- choisir un point de transfert t_i (dans l'ensemble de la trajectoire) avec une probabilité proportionnelle à l'énergie déposée ;
- choisir un point dans l'espace au hasard (selon une probabilité uniforme) autour du point t_i , mais à l'intérieur d'une distance r_i ;
- calculer et conserver l'énergie spécifique z_i , à ce point.

Répéter le processus N fois de façon à obtenir une suite de valeurs $\{z_i\}$ qui serviront à établir $d_1(z)$ et \bar{z}_D . La moyenne \bar{z}_D peut alors être calculée comme suit :

$$\bar{z}_D = \frac{1}{N} \sum_{i=1}^N z_i$$

Comme vu dans le paragraphe précédent, $f(z)$ et $d(z)$ sont reliées par l'équation suivante :

$$d(z) = \frac{z \times f(z)}{D}$$

5.1.6.4 Valeurs moyennes des distributions microdosimétriques, équation de Kellerer-Chmelevsky

Il n'est en fait pas nécessaire de connaître le détail de la distribution de l'énergie spécifique z , la connaissance de ses moments est suffisante, du moins pour les besoins de la radiobiologie. Kellerer propose de calculer \bar{z}_D à partir des trajectoires simulées, sans passer par $f(y)$.

\bar{z}_D est l'analogie, en microdosimétrie, de la dose D en macrodosimétrie.

On a vu, dans le paragraphe précédent, que :

$$\bar{z}_D = \frac{\bar{z}_F^2}{\bar{z}_F}$$

C'est à partir de cette expression que l'on peut démontrer l'équation de Kellerer-Chmelevsky (démonstration en annexe), qui est la suivante :

$$z_{1D} = \frac{1}{m} \cdot \int_{x=0}^d u(x) \cdot t(x) \cdot dx$$

Cette équation est un résultat essentiel de la microdosimétrie structurale et permet de calculer la moyenne en dose de l'énergie spécifique à partir de l'intégrale du produit de deux fonctions :

- l'une $t(x)$ est la fonction de proximité de la radiation, spécifiant les propriétés spatiales du dépôt de l'énergie de rayonnement. $t(x)$ est une fonction qui caractérise la radiation sous étude; elle peut être calculée par méthode Monte Carlo.
- l'autre $u(x)$ est la fonction de proximité du milieu, spécifiant la répartition des structures sensibles du milieu irradié assimilées dans le cas présent à des sphères. $u(x)$ est une fonction qui caractérise plutôt le milieu soumis à la radiation.

L'intérêt de cette approche est de dissocier les contributions de la radiation et du milieu dans le calcul de z_{1D} . On peut mesurer ces contributions indépendamment l'une de l'autre et ainsi dissocier les caractéristiques du milieu et celles de la radiation.

5.1.6.5 Application de la microdosimétrie structurale à la radiobiologie (Theory of Dual Radiation Action - TDRA)

La TDRA reprend le postulat de Lea et Catchside qui ont proposé dans les années 40, avant même la découverte de l'ADN, que le nombre de lésions létales infligées aux cellules était proportionnel au carré de l'énergie déposée dans la cellule.

On a donc : nombre de lésions $\propto z^2$.

Une première version de la TDRA [Kellerer and Rossi, 1972] était basée sur le principe que toutes les paires de sublésions dans un site sensible ont une probabilité uniforme de combinaison et une probabilité nulle en dehors du site.

Soit $\Gamma(D)$, le nombre moyen de lésions en fonction de la dose absorbée. On obtient donc le nombre de lésions en faisant la moyenne du spectre d'énergie spécifique z pondérée par le nombre de lésions pour une énergie spécifique z , $\Gamma(z)$.

On a :

$$\Gamma(D) = \int_0^\infty \Gamma(z) \cdot f(z, D) dz = \int_0^\infty cz^2 \cdot f(z, D) dz = c \cdot \bar{z}_F^2$$

avec c la constante de probabilité de la combinaison des sublésions en lésions.

En 1978, Kellerer propose le modèle de la TDRA généralisé [Kellerer, 1978] qui introduit une probabilité non-uniforme de combinaison de sublésions $g(x)$ en fonction de la distance x des sublésions.

Il s'agit d'utiliser l'équation de Kellerer-Chmelevsky en remplaçant le facteur de réduction géométrique $u(x)$ par $\gamma(x)$, la fonction de proximité biologique. Cette fonction de proximité spécifie la répartition des structures sensibles du milieu irradié. On a donc :

$$\gamma(x) \propto u(x).g(x)$$

Pour une sphère, la fonction de proximité est

$$\gamma_{sphere}(x) = g(x).u(x) = 4\pi x^2.u(x) = 4\pi x^2.(1 - \frac{3x}{2d} + \frac{x^3}{2d^3}), 0 \leq x \leq d$$

En 2003, Kellerer et Chen [Kellerer and Chen, 2003] ont proposé l'expression suivante pour $g(x)$:

$$g(x) \sim e^{-\frac{x}{\delta x}}, \text{ avec } \delta x \text{ une distance d'interaction effective.}$$

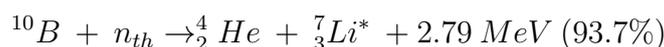
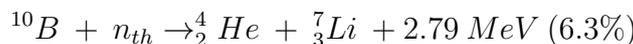
5.2 Microdosimétrie des radiothérapies utilisant la combinaison irradiation & atomes cibles présents dans la tumeur

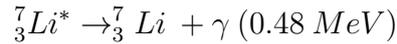
L'importance de la microdosimétrie dépend du type d'irradiation ainsi que du tissu considérés. On peut classer les types d'irradiation suivant leur TEL (transfert d'énergie linéique). Par exemple, une irradiation avec des photons- γ correspond à une irradiation à bas TEL. Une irradiation par BNCT est une irradiation à TEL "moyen" et une irradiation avec des particules lourdes telles que les alphas (émission du Radon-222) ou l'hadronthérapie présentent un haut TEL. Pour les bas TEL, la dose moyenne reçue macroscopiquement est proche de celle calculée à l'échelle cellulaire ou sub-cellulaire. La distribution spatiale de la dose est uniforme dans le tissu et les cellules. A partir de l'utilisation d'un rayonnement de TEL moyen, la distribution de la dose devient inhomogène (certaines cellules recevront de fortes doses et d'autres pas). Plus le TEL devient important, plus cette inhomogénéité l'est aussi. C'est pourquoi, de nombreuses études microdosimétriques ont été menées pour la BNCT. Cette technique de radiothérapie est proche, dans le principe, de la radiothérapie stéréotaxique par rayonnement synchrotron ou RSRS (présence d'éléments dans la tumeur qui augmentent le TEL localement). Au niveau de la RSRS, la dépendance de la distribution de dose vis-à-vis de la localisation des éléments lourds rend l'approche microdosimétrique importante de la même manière que la BNCT, même si la technique RSRS utilise des photons (de bas TEL).

Dans cette section, sont présentées les études microdosimétriques qui ont été réalisées tant pour la BNCT que pour la RSRS.

5.2.1 Boron Neutron Capture Therapy (BNCT)

Le principe de la BNCT est d'irradier avec un faisceau de neutrons la tumeur contenant des atomes de bore stable (B-10). De la capture thermique des neutrons par le bore résulte l'émission localisée de particules ionisantes (Li-7 et He-4) ayant un faible parcours dans le tissu (environ 5 à 7 μm , dimension proche de la taille d'une cellule). Les équations du processus de fission nucléaire sont :





En moyenne, 2.31 MeV sont emportés par le lithium et la particule alpha. De la même manière que pour la RSRS, l'efficacité de la BNCT, au niveau biologique, dépend radicalement de la distribution des atomes de bore mais aussi de la morphologie du tissu irradié au niveau sub-cellulaire. C'est pourquoi, il est important pour ces deux techniques de les étudier au niveau microdosimétrique.

Du fait qu'il y ait peu de données microdosimétriques pour la RSRS, nous nous intéresserons particulièrement aux études réalisées dans ce domaine pour la BNCT.

Dans cette partie, un aperçu de la BNCT est proposé ainsi que l'explication d'études microdosimétriques réalisées dans cette thématique.

5.2.1.1 Voies d'administration du bore

Les premières applications cliniques aux USA, dans les années 50, ont été réalisées avec différents transporteurs de bore : le borax, le sodium pentaborate, l'acide carboxyphenylboronique et le disodium decahydrodecaborate. Les résultats insatisfaisants obtenus ont été attribués à la faible pénétration du faisceau de neutrons utilisé. Par la suite, un faisceau de haute fluence neutronique a été utilisé en présence d'une forte concentration de sodium pentaborate. Cette approche a résulté en des effets délétères à la peau. L'utilisation de fortes concentrations avec un autre agent (le borax) a conduit à des effets délétères au niveau des vaisseaux sanguins du cerveau sain. Le problème de la non-spécificité des transporteurs de bore vis-à-vis des cellules tumorales a été souligné [van Rij et al., 2005].

L'approche a été reprise par des médecins japonais en utilisant des transporteurs de bore plus sélectifs qui sont le sodium borocaptate (BSH) et le boronophénylalanine (BPA). Les recherches ont alors été suivies aux USA et en Europe. Ces deux composés ont été utilisés dans différents essais cliniques : le BSH par Hatanaka *et al.* [Hatanaka, 1975] sur des gliomes de haut grade, le BPA par Mishima *et al.* [Mishima et al., 1989] sur des mélanomes cutanés. Le BPA-fructose a été utilisé pour traiter des glioblastomes par Diaz *et al.* [Diaz, 2003]. Par la suite, c'est ce BPA-fructose qui est le plus utilisé que ce soit pour des tumeurs cérébrales ou non.

Le BSH et BPA sont des transporteurs de bore administrés par voie intra-veineuse. Le BSH est un composant lipophile, il contient 12 atomes de bore. Le principe utilisé pour l'administration de ces molécules est qu'elles peuvent traverser la BHE seulement au niveau de la tumeur, c'est-à-dire là où la BHE est partiellement lésée. Le BPA ne contient quant à lui qu'un seul atome de bore par molécule. Le BPA étant peu soluble dans l'eau, il est administré par voie intra-veineuse sous forme d'un complexe BPA-fructose, soluble. Le BPA est internalisé dans les cellules tumorales par transport transmembranaire actif. Le rapport entre la concentration en bore dans la tumeur et la concentration dans le sang a été estimé pour les deux composés. Il est <1 et de l'ordre de 2-4 pour le BSH [Hideghéty et al., 2003] et BPA [Elowitz et al., 1998] respectivement. Pour donner un ordre d'idée, la concentration en bore dans la tumeur doit être de l'ordre de 10-30 $\mu\text{g/g}$ soit 10-30 ppm pour que la BNCT soit efficace [Carlsson et al., 2003]. Cette concentration correspond à 10^9 atomes de bore dans chaque cellule tumorale. De nombreuses autres approches ont été développées, utilisant des molécules de faible ou fort poids moléculaire, qui ont la propriété de s'incorporer dans les cellules pour notamment amener les atomes de bore à proximité de l'ADN. Par exemple, des molécules de faible poids moléculaire comme des nucléosides [Tjarks et al., 2001] ou des intercalants de l'ADN [Gedda et al., 2000] peuvent être utilisées. L'utilisation de liposomes [Carlsson et al., 2003] ciblant des récepteurs cellulaires est aussi investiguée mais cette approche est confrontée au problème

du franchissement de la BHE. L'injection par voie directe semble être incontournable pour ce type de macromolécules.

Barth *et al.* [Barth, 2009] travaillent, quant à eux, sur des modèles de gliomes de rat (F98) et différentes combinaisons d'agents (BSH, BPA et mannitol) et modes d'administration (voies intracardiaque ou intraveineuse). Le mannitol sert à rompre la BHE et permet d'augmenter la concentration en bore dans la tumeur par rapport aux tissus sains [Barth et al., 2000]. C'est la combinaison des deux agents BSH, BPA injectés par voie intracarotidienne avec du mannitol qui a conduit aux meilleurs résultats (moyenne de survie : 140 ± 133 jours).

Des améliorations au niveau chimique et biologique restent cependant à réaliser. Le but étant d'augmenter la concentration en bore dans la tumeur tout en gardant une faible concentration dans les tissus sains pour limiter la toxicité du traitement.

5.2.1.2 Limitation dosimétrique

La limitation dosimétrique de la BNCT est la même que la RSRS et correspond à la difficulté de réaliser un plan de traitement en prenant en compte la distribution de l'élément lourd en fonction du temps. La difficulté est de connaître ces informations avant le traitement.

Pour déterminer la concentration et la distribution du bore, différentes techniques de mesure sont étudiées et décrites dans la revue de Wittig *et al.* [Wittig et al., 2008]. Ces méthodes *in vivo* sont : l'imagerie par résonance magnétique (l'IRM est sensible aux atomes de bore mais seulement si les molécules sont relativement mobiles comme dans de l'eau, ce qui conduit à des difficultés *in vivo*), la tomographie par émission de positron (utilisation du ^{18}F -BPA), ou encore l'utilisation d'un algorithme basé sur la concentration en bore dans le sang.

L'avantage de la RSRS est que l'on peut facilement déterminer la distribution de l'iode par tomographie par rayons-X. La tomographie par rayons-X avec un faisceau monochromatique permet d'obtenir une carte de distribution quantitative. Cette approche a été investiguée *in vivo* chez le rat (cf thèse S. Corde [Corde, 2002]). Il a été montré qu'il est possible de cartographier *in vivo* les concentrations en iode ou gadolinium dans les tissus cérébraux sains ou pathologiques ainsi que leur évolution temporelle. La difficulté reste celle de pouvoir effectuer le plan de traitement sur une distribution en iode obtenue au préalable du traitement. L'hypothèse alors faite est que la tumeur a pas ou peu évolué et que les deux injections conduiront à la même distribution. Ce dernier point reste à valider chez l'homme.

5.2.1.3 Approches microdosimétriques en BNCT

Le but des études microdosimétriques est de comprendre les observations biologiques, d'évaluer l'influence de la distribution des éléments lourds sur l'efficacité biologique mais aussi de pouvoir prédire, par exemple, l'efficacité d'un composé. Il est important de pouvoir prendre en compte la micro-distribution des atomes de bore vis-à-vis du faible parcours des particules secondaires ($5-7 \mu\text{m}$). Si on considère une distribution homogène (différente de la réalité), quelle en sera la conséquence d'un point de vue dosimétrique ?

Dans les paragraphes suivants seront présentées : une approche "classique" utilisant un compteur proportionnel et une méthode originale de radiographie combinant des simulations Monte Carlo et un modèle *in vitro* 2D.

Compteurs proportionnels Dans différentes études, les spectres microdosimétriques ont été obtenus expérimentalement avec un compteur proportionnel dopé avec du bore [Hsu et al., 2009, Hugtenburg et al., 2009a, Wu et al., 1992].

Figure 5.10 sont présentés les spectres d'énergies linéiques obtenus par Hsu *et al.* avec un compteur proportionnel dopé au bore à 50 ppm. La pression du gas est réglée de telle sorte que le volume équivalent soit équivalent à une sphère de rayon $1 \mu m$. L'énergie linéique maximale est située autour de $600 \text{ keV}/\mu m$ et on voit les contributions de l'hélium et le lithium au niveau des fortes valeurs de y , principalement entre environ 150 et $600 \text{ keV}/\mu m$.

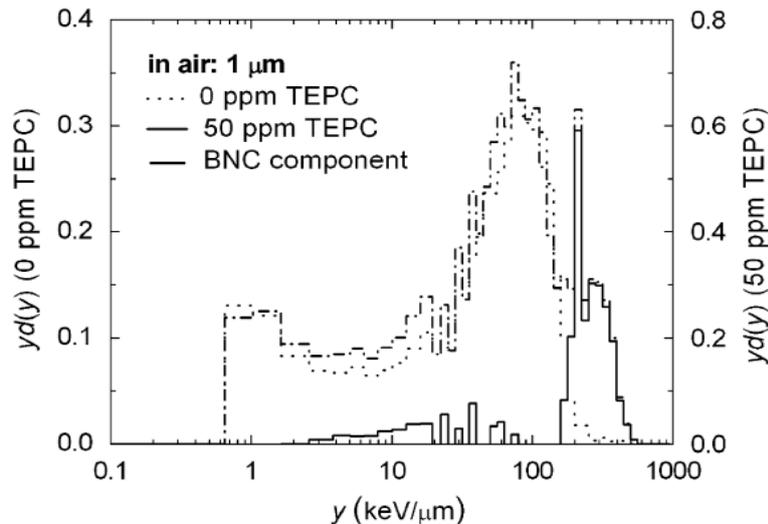


Figure 5.10 – Spectres d'énergies linéiques mesurés avec un compteur proportionnel dopé ou non à 50 ppm obtenues par Hsu *et al.* [Hsu et al., 2009]. La différence entre les deux spectres est indiquée en traits pleins.

Hsu *et al.* ont déterminé les spectres d'énergie linéique ainsi que les RBE pour le faisceau de neutrons du THOR (Tsing Hua open-pool reactor). Ils suggèrent qu'en plus de devoir prendre en compte les différences de distribution en bore entre les études, pour pouvoir faire des comparaisons, il faut aussi prendre en compte les différences des RBE du faisceau de neutrons lui même. Ainsi, Hsu trouve un "neutron RBE" de 3.16 ± 0.02 tandis que Green *et al.* [Green et al., 1998] ont trouvé un RBE de 3.4 ± 0.1 .

Radiographie à haute résolution ("high résolution auto radiographie", HR-QAR) et simulations Monte Carlo 2D Cette technique d'autoradiographie mesure à l'échelle sub-cellulaire la distribution du bore dans des échantillons de tissu avec une résolution et une sensibilité d'environ $1-2 \mu m$ et approximativement 1 ppm de B-10. Ces distributions réalistes du bore sont combinées à des simulations Monte Carlo des réactions de capture de bore dans la morphologie du tissu pour donner une estimation réaliste des paramètres microdosimétriques.

La mesure de la distribution du bore dans une fine couche de tissu ($2 \mu m$) est indirecte. Un film est placé juste en arrière du tissu irradié et n'est pas sensible aux particules de bas TEL telles que les électrons, photons ou encore protons. C'est en fait les traces du Li et des particules alphas qui vont indiquer la position des atomes de bore. Le tissu est par la suite traité par coloration histologique à l'hématoxyline et éosine (H&E) pour ainsi connaître la disposition des cellules et noyaux. Le film quant à lui est numérisé et permet de superposer la distribution obtenue du bore avec la géométrie tissulaire. L'hypothèse utilisée dans cette

technique est de considérer la matrice cellulaire 2D comme étant équivalente à du 3D puisque l'on peut reconstruire différentes cellules en 3D à partir des sections appartenant au plan 2D. Le calcul Monte Carlo réalisé dans cette étude consiste à calculer l'énergie déposée dans chaque cible (noyau, cytoplasme, milieu extracellulaire) en utilisant les TEL obtenus avec le code TRIM. Les résultats de cette étude ont montré qu'il y aurait 24% de l'énergie déposée dans les noyaux et non pas 30% obtenus lorsque l'on considère la distribution en atomes de bore uniformément répartie.

5.2.2 Radiothérapie stéréotaxique par rayonnement synchrotron (RSRS)

Une première partie est consacrée aux études microdosimétriques réalisées avec des rayons-X en général puis celles réalisées pour la RSRS.

5.2.2.1 Études microdosimétriques des rayons-X (RX)

De nombreuses études ont été menées en radiobiologie des faibles doses pour la curiethérapie ainsi qu'en imagerie, avec en particulier l'augmentation de l'utilisation des mammographes et les possibles cancers radioinduits. Le développement de techniques telles que l' "Intensity-Modulated Radiation Therapy" (IMRT) ou encore l'arc-thérapie utilisant des faisceaux de plus hautes énergie (MV) a aussi suscité une caractérisation microdosimétrique pour évaluer leur efficacité biologique vis-à-vis des techniques standards utilisant des intensités et tailles de champs différentes.

Les questions sous-jacentes sont :

Bien que les RX soient définis comme des particules de bas TEL, de la même manière que les γ ,

- L'efficacité biologique des RX dépend-t-elle de leur énergie ? En particulier, quelle est l'efficacité biologique des RX de faibles énergies ?
- Les caractéristiques microdosimétriques d'un faisceau de radiothérapie conventionnelle dépendent-elles de la taille de champs utilisée, de son intensité ?

Des études radiobiologiques, et plus particulièrement des études sur les aberrations chromosomiques [Bauchinger et al., 1983, Schmid et al., 1980, Sasaki et al., 1989, Roos and Schmid, 1998, Schmid et al., 1984], ont mis en évidence l'efficacité des RX par rapport aux rayons- γ , ainsi que celle des photons d'énergies inférieures à 10 keV par rapport aux RX conventionnels (RX d'un spectre de 200 kVp). C'est pourquoi de nombreuses études ont porté sur la caractérisation de différentes sources de photons de faibles énergies en curiethérapie [Reniers and Verhaegen, 2006, Reniers et al., 2004b, Wu et al., 1996, Wu and Zaider, 1998], ou encore mammographie [Kellerer, 2002, Reniers and Verhaegen, 2006, Verhaegen and Castellano, 2002].

Les RX de basses énergies, un exemple : la mammographie En ce qui concerne la mammographie, Frankenberg *et al.* soutiennent, début des années 2000, que les rayons utilisés en mammographie provoquent environ 8 fois plus de cancers radio-induits que les rayons- γ [Frankenberg et al., 2002b, Frankenberg et al., 2002a]. Schmid *et al.* obtiennent en 2002 des valeurs de RBE (Relative Biological Effectiveness)² de 1.6 ± 0.3 pour des RX de 29 kVp par rapport à un faisceau de 200 kVp et 3.0 ± 0.7 par rapport au même faisceau mais fortement filtré [Schmid et al., 2002]. Des différences significatives d'efficacité biologique ont donc été observées selon l'énergie du rayonnement.

2. RBE : rapport des doses nécessaires entre deux rayonnements différents pour obtenir le même effet biologique.

Kellerer et Chen [Kellerer and Chen, 2003] comparent en 2003, les RX utilisés en mammographie (tube de 29 kVp) et des RX issus d'un spectre conventionnel de 200 kVp. Ils ont étudié l'impact des différentes interactions des photons sur l'effet biologique des rayonnements. L'interaction majoritaire des RX provenant du tube utilisé en mammographie est l'effet photo-électrique comparé à la diffusion Compton pour les RX du tube de radiologie conventionnelle. L'hypothèse utilisée dans cette étude est la suivante : tous les photo-électrons (particules secondaires du spectre de mammographie) sont accompagnés d'électrons Auger de 0.5 keV comparé à seulement 20% des électrons Compton (particules secondaire du spectre conventionnel). A partir des fonctions de proximité $t(x)$ qui déterminent la fréquence relative de cassures double-brins de l'ADN à une distance x (processus à deux lésions) pour un type de particule donné, Kellerer et Chen ont étudié le potentiel impact des électrons Auger sur l'efficacité des photo-électrons par rapport aux électrons Compton. L'énergie effective des électrons est plus grande que 15 keV pour le mammographe et inférieure à 40 keV pour un tube conventionnel de 200 kVp. L'analyse suggère que pour des électrons de 15 keV à faible dose par rapport aux électrons de 40 keV, le RBE est de 1.6 si la distance d'interaction ne dépasse pas $1 \mu m$. Ils ont montré que les électrons Auger peuvent rendre les photo-électrons plus toxique d'un point de vu biologique que les électrons Compton en dessous de 10 keV mais pas au-dessus de 15 keV. Avec un modèle de double lésions réaliste, l'efficacité des photo-électrons de 15 keV n'atteint pas un RBE supérieur à 1.6 par rapport aux électrons de 40 keV. C'est pourquoi, sachant que l'énergie effective des électrons est plus grande que 15 keV pour un mammographe et inférieure à 40 keV pour un tube conventionnel de 200 kVp, le RBE entre les RX utilisés en mammographie et un spectre conventionnel de 200 kVp ne dépasse pas 1.6.

Ces résultats sont différents de ceux obtenues dans les études citées précédemment, Kellerer [Kellerer, 2002] explique cela par l'impact sur le RBE de l'utilisation d'un faisceau plus dur pour certaines expériences (220 kVp avec 2 mm d'aluminium et 3.3 mm de cuivre utilisé dans la majorité des études) et de la géométrie d'irradiation des cellules dont certaines sont irradiées sans matériel diffusant ce qui favorise les interactions des photons de basses énergies du mammographe.

Caractéristiques des faisceaux de RX de “moyenne” énergie, entre 10 et 2000 keV

Dans notre étude nous nous intéressons au RX de plus fortes énergies que les spectres utilisés en mammographie. Chen *et al.* [Chen et al., 2006] ont étudié les paramètres microdosimétriques pour des photons monoénergétiques de 10 keV à 2 MeV dans des petits (taille de la cellule aux petits rongeurs) ou grands milieux diffusants tels que le corps humain. Des différences significatives ont été observées entre un faisceau de haute énergie de rayons- γ par rapport à des RX conventionnels que ce soit dans un petit ou un grand milieu diffusant appelé récepteur. Les valeurs de y_D suggèrent que les RX conventionnels sont deux fois plus efficaces (efficacité biologique) que les rayons- γ d'un faisceau de Cobalt.

Aux énergies typiquement utilisées avec des tubes conventionnels (200-250 kVp), les énergies linéiques moyennes en dose dans une sphère de $1 \mu m$ sont $\simeq 4 \text{ keV}/\mu m$, que ce soit dans un petit ou un grand récepteur. Pour les rayons- γ et pour le faisceau de Cobalt, y_D vaut $1.57 \text{ keV}/\mu m$ dans un petit récepteur et $1.98 \text{ keV}/\mu m$ dans un grand récepteur. Cette différence est due aux photons diffusés Compton. Il y a donc un rapport 2.5 ou 2 suivant le type de récepteur entre des RX de moyenne énergie et des rayons- γ .

La figure 5.11 indique les valeurs de y_D obtenues pour des photons monochromatiques de 10 à 2000 keV en fonction de la taille du récepteur et du volume de mesure. On voit que globalement y_D diminue avec l'énergie des photons qui augmente. Ceci s'explique

par l'augmentation de l'énergie des particules secondaires ce qui a pour conséquence de déposer moins d'énergie dans le volume de mesure. La partie croissante correspond à l'augmentation de la proportion d'interactions Compton par rapport aux interactions photoélectriques. Cette section de courbe sera expliquée plus en détails dans la partie sur la microdosimétrie pour la RSRS. Ces résultats suggèrent une efficacité biologique dépendante de l'énergie des photons, du volume cible et du milieu diffusant.

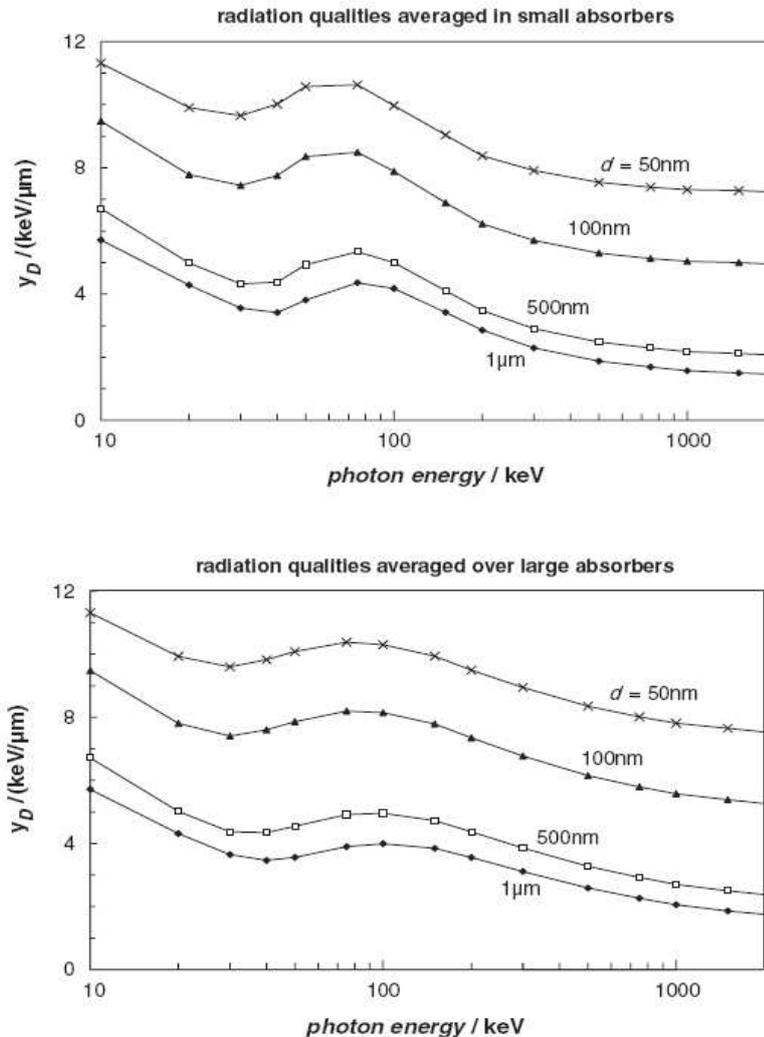


Figure 5.11 – Énergies linéiques moyennes en dose pour des photons monochromatiques de 10 à 2000 keV dans un petit (a) ou grand (b) milieu diffusant et pour différents volumes de mesures (noté d), d'après Chen *et al.* [Chen et al., 2006].

Caractéristiques microdosimétriques des faisceaux de photons pour la radiothérapie conventionnelle (MV)

Une étude de Liu et Verhaegen [Liu and Verhaegen, 2002] portant sur les spectres microdosimétriques de ces RX de hautes énergies en fonction de l'intensité et de la taille de champs du faisceau montre que la composante des faibles énergies du faisceau varie significativement avec la taille de champs, et la position du point de mesure dans le champ ce qui influence les valeurs d'énergie linéique en dose. L'énergie linéique moyenne en dose passe de 2.3 à 3.7 keV/μm pour un faisceau de 4 × 4 cm² et à 1.5 cm de profondeur sur l'axe par rapport à un champ de 10 × 10 cm² et à 20 cm de profondeur dans la pénombre. Lorsque la taille de champ est augmentée, le nombre de photons diffusés l'est aussi, ce

qui correspond aux basses énergies du spectre. Cet effet est aussi présent aux périphéries des champs (pénombre) et augmente avec la profondeur de mesure. Les énergies linéiques moyennes en dose obtenues avec des faisceaux utilisés pour la modulation d'intensité passent de 2.6 à 3.5 keV/ μm pour un test donné. Ces valeurs sont aussi significativement plus grandes que la référence du faisceau de Cobalt (^{60}Co , 1.8 keV/ μm). Le détail des valeurs moyennes obtenues suivant les positions du point de mesure est reporté figure 5.12 pour des champs carrés de 4 et 10 cm de côté. La figure 5.13 indique les énergies linéiques moyennes en dose obtenues pour deux irradiations avec modulation d'intensité différentes en fonction de la dose déposée au point de mesure considéré. Les changements en \bar{y}_D avec l'intensité de la dose sont dus à l'augmentation de la proportion des photons de faibles énergies dans les régions de faibles doses (de la même manière qu'en changeant la taille de champs).

Location depth (cm)	4 cm central axis		10 cm central axis		10 cm penumbra	
	$\langle y_F \rangle$	$\langle y_D \rangle$	$\langle y_F \rangle$	$\langle y_D \rangle$	$\langle y_F \rangle$	$\langle y_D \rangle$
1.5	0.42	2.3	0.51	2.7	1.0	3.5
10	0.43	2.5	0.57	2.9	0.99	3.6
20	0.41	2.4	0.61	3.1	1.1	3.7

Figure 5.12 – Valeurs moyennes en fréquence et en dose de l'énergie linéique pour un faisceau de 6 MV en différents points dans des champs carrés de $4 \times 4 \text{ cm}^2$ et $10 \times 10 \text{ cm}^2$, d'après Liu et Verhaegen [Liu and Verhaegen, 2002].

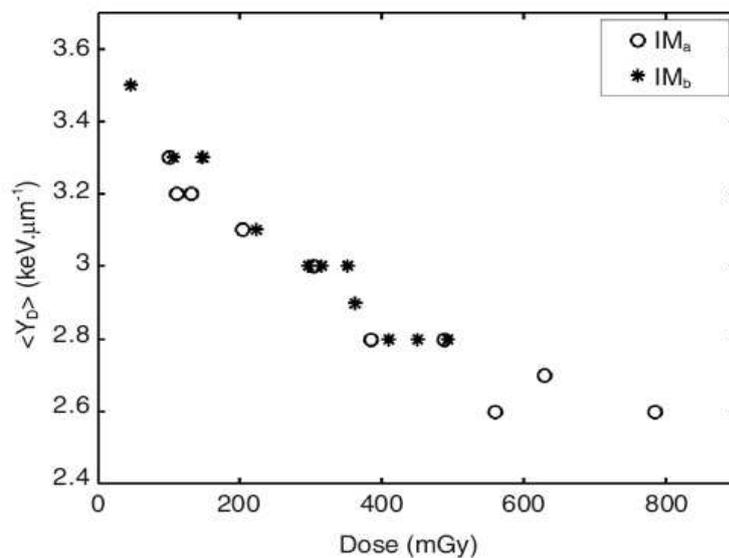


Figure 5.13 – Énergies linéiques moyennes en dose en fonction de l'intensité en dose pour deux études différentes de radiothérapie par modulation d'intensité, d'après Liu et Verhaegen [Liu and Verhaegen, 2002].

Conclusion L'efficacité biologique des rayons-X dépend de leur énergie, du mode d'interaction (production d'électrons Auger lors d'interactions photo-électriques, par exemple), du milieu diffusant, du volume cible et de l'intensité et taille de champ utilisé.

5.2.2.2 Études réalisées de spectres microdosimétriques pour la radiothérapie stéréotaxique par rayonnement synchrotron

Études de l'évolution des spectres microdosimétriques en présence d'éléments lourds Verhaegen *et al.* ont aussi étudié la RSRS d'un point de vue dosimétrique et microdosimétrique [Verhaegen et al., 2005]. La partie microdosimétrique a consisté à calculer les énergies linéiques moyennes en dose y_D en fonction de la qualité du faisceau utilisé (différentes énergies monochromatiques et différents spectres polychromatiques), de la profondeur, de l'élément lourd (iode et gadolinium) et de sa concentration. La figure 5.14 représente l'énergie linéique moyenne en dose en fonction de l'énergie des photons calculée dans des sphères de $1 \mu\text{m}$ de diamètre de vapeur d'eau. Plus l'énergie des photons est grande, plus l'énergie des électrons secondaires l'est aussi, ce qui génère des ionisations plus éparses dans le milieu et donc un effet biologique plus faible et un y_D plus faible. On s'attend donc à observer une droite décroissante. Cependant deux maximums apparaissent. Entre 35 keV et 80 keV, y_D augmente avec l'énergie des photons. Cet intervalle correspond aux énergies potentiellement utilisables pour la radiothérapie synchrotron. A partir de 30 keV, l'effet Compton, dans l'eau, devient le processus d'interaction dominant et conduit à des électrons secondaires de plus faible énergie. C'est pourquoi y_D et l'effet biologique, augmentent. Après 80 keV, les électrons ont de nouveau une énergie suffisamment grande ce qui conduit à une diminution de y_D . Le premier maximum (autour de 8 keV) est lié au parcours des électrons secondaires et à la taille du volume sensible considérée (ici, $1 \mu\text{m}$).

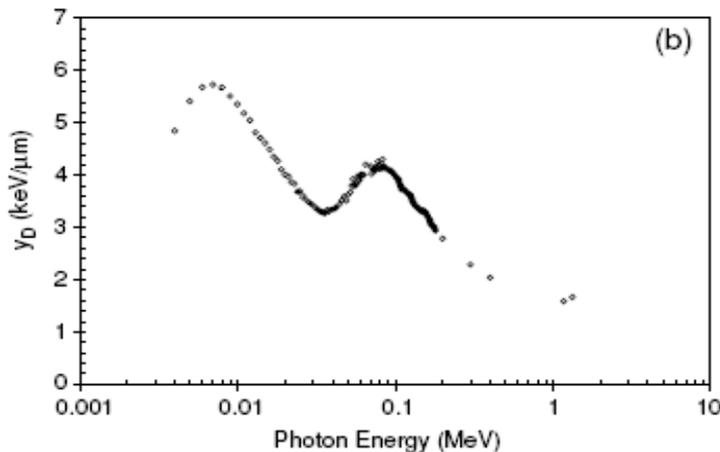


Figure 5.14 – Énergie linéique moyenne en dose en fonction de l'énergie des photons, d'après Verhaegen *et al.* [Verhaegen et al., 2005].

Ce graphique est de bonne augure vis-à-vis du choix de l'énergie optimale pour la RSRS. En effet, on a vu dans la partie I (“macrodosimétrie”) que le choix de l'énergie est un compromis entre l'augmentation de dose dans la tumeur (50 keV pour l'iode) et la protection des tissus sains (énergie la plus élevée possible). Le compromis a été choisi autour de 80 keV. C'est pourquoi, il est très intéressant de voir que, dans l'eau, l'énergie linéique moyenne en dose est supérieure à 80 keV qu'à 50 keV. Même si, en augmentant l'énergie, on diminue l'augmentation de dose due à l'iode, on améliore l'effet biologique du rayonnement.

D'autre part, l'énergie linéique moyenne en dose est constante en fonction de la profondeur dans de l'eau (cf figure 5.15). Cette variation a été étudiée pour un milieu iodé

(300 mg/mL) et un milieu contenant du gadolinium (79 mg/mL). En présence d'iode, la valeur de y_D est supérieure à celle de l'eau et inversement avec le gadolinium. Cette différence est due à l'énergie des photons caractéristiques de l'élément lourd et à l'importance relative de l'effet photo-électrique. Cependant, les concentrations simulées sont beaucoup plus élevées que celles que l'on peut obtenir en injectant l'agent de contraste par voie intraveineuse. Il faudrait donc valider ceci avec des concentrations plus faibles mais *a priori* il n'y a pas de raison que les tendances changent. Les valeurs de y_D obtenues pour le milieu iodé sont relativement constantes en fonction de la profondeur quelle que soit l'énergie. Pour le gadolinium, à 65 keV, la valeur de y_D passe de environ 3.88 keV/ μm à 3.78 keV/ μm . Cette figure semble suggérer l'utilisation d'iode plutôt que de gadolinium d'un point de vue microdosimétrique.

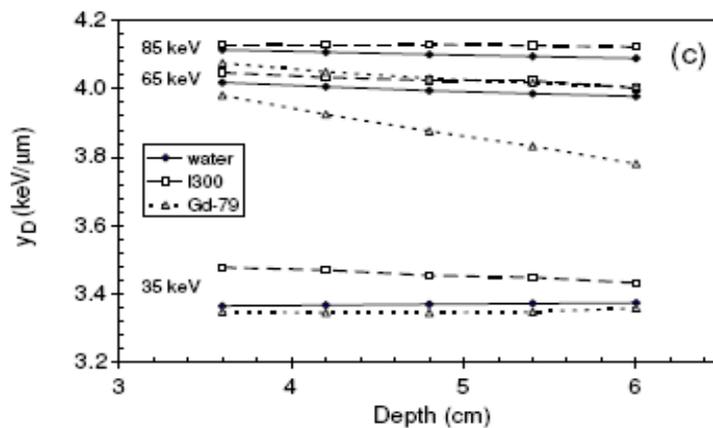


Figure 5.15 – Énergie linéique moyenne en dose en fonction de la profondeur dans de l'eau, un milieu aqueux contenant de l'iode (300 mg/mL) ou du gadolinium (79 mg/mL), d'après Verhaegen *et al.* [Verhaegen *et al.*, 2005]

Hugtenburg *et al.* ont évalué les spectres d'énergies linéiques en dose obtenus en présence de gadolinium (cf figure 5.16). La figure 5.16-a compare les spectres obtenus à 70 keV dans un milieu aqueux contenant ou non 10 mg/mL de gadolinium. Ce cas de figure correspond au changement de spectre que l'on obtient si l'on considère une distribution homogène en gadolinium dans le tissu (10 mg/mL dans l'espace extracellulaire et 10 mg/mL dans les cellules). L'énergie linéique en dose augmente en présence de gadolinium.

La figure 5.16-b correspond à la situation où l'élément lourd se trouve à l'extérieur de la cible (le K-edge du gadolinium est 50.239 keV). Il s'avère cependant difficile d'interpréter ces résultats, ou de pouvoir les transposer à ceux que l'on obtiendrait pour des cellules entourées d'un milieu contenant du gadolinium, pour différentes raisons :

- il ne s'agit pas d'un milieu aqueux contenant du gadolinium mais d'une couche de gadolinium métallique pur de 100 μm
- le site n'est pas entouré de gadolinium, le site est situé derrière une épaisseur plane de 100 μm de gadolinium.

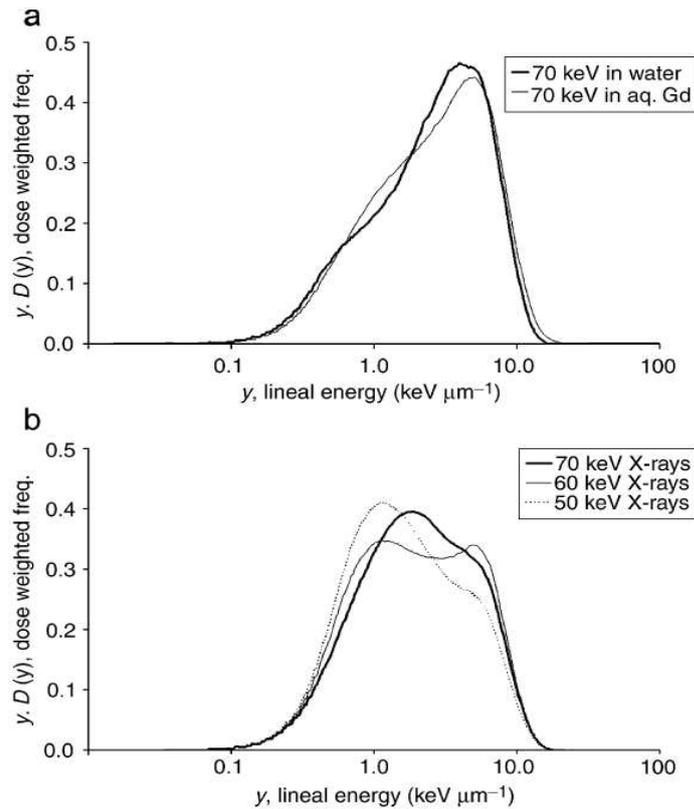


Figure 5.16 – Spectres d'énergie linéique obtenus par Hugtenburg [Hugtenburg et al., 2007] pour des sites sphériques de $1 \mu m$ a) de milieu aqueux contenant ou non 10 mg/mL de gadolinium et irradié à 70 keV , b) sites à proximité de $100 \mu m$ de gadolinium métallique.

Il est difficile de transposer ces spectres à ce que l'on pourrait obtenir *in vivo* avec la RSRS. La répartition de l'élément lourd par rapport à la cible est en effet très importante car on favorise l'effet photoélectrique qui génère des photo-électrons d'émission quasi-isotrope, aux énergies considérées.

On peut tout de même noter que même si pour le gadolinium l'énergie optimale en terme d'augmentation de dose est autour de 60 keV , il semble d'un point de vue d'efficacité biologique, qu'il serait plus intéressant d'irradier à 70 keV ($y_{D,70\text{keV}}$ semble $> y_{D,60\text{keV}}$). On retrouve, ici, la même observation que dans la publication de Verhaegen *et al.* [Verhaegen et al., 2005] qui ont montré qu'entre 36 keV et 80 keV l'énergie linéique moyenne en dose augmente à cause de l'augmentation de l'effet Compton. Pour le gadolinium, entre 60 keV et 70 keV , la proportion de l'effet photoélectrique par rapport aux coefficients d'atténuation totale est 25% et 20% respectivement. La proportion d'interactions Compton est de 69% à 60 keV et 75% à 70 keV . On observe donc le même effet pour le gadolinium, c'est-à-dire qu'entre 60 keV et 70 keV la probabilité d'interagir par effet Compton et ainsi de produire des électrons de plus faible énergie augmente (augmentant y_D).

Comparaison de spectres microdosimétriques mesurés avec des faisceaux monochromatiques produits par un synchrotron avec des simulations Monte Carlo

Les spectres microdosimétriques obtenus par simulations (PENELOPE) et expérimentalement avec un compteur proportionnel équivalent tissu (TEPC) [Hugtenburg et al., 2009b] sont présentés figure 5.17.

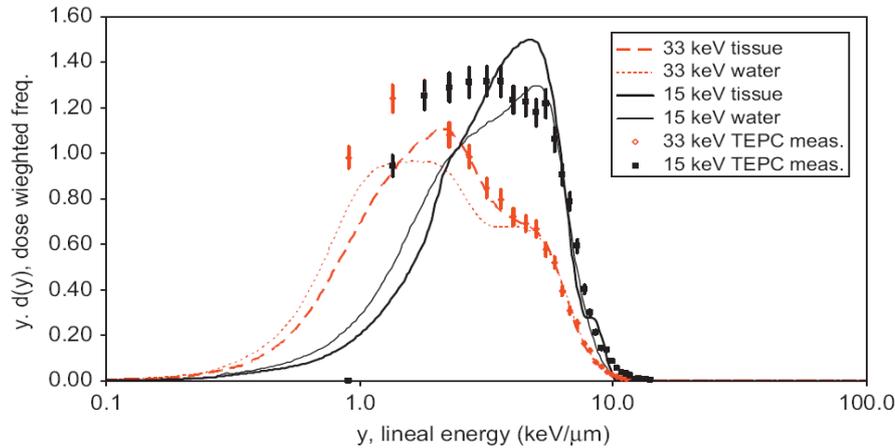


Figure 5.17 – Spectres d'énergies linéiques obtenus par Hugtenburg [Hugtenburg et al., 2009b] par simulation avec PENELOPE comparés aux spectres obtenus expérimentalement pour des photons de 15 keV et 33 keV. Les calculs sont réalisés pour du gaz équivalent tissu et de la vapeur d'eau.

Une bonne correspondance entre valeurs expérimentales et simulations (tissu) aux grandes énergie linéiques est obtenue. Cependant, les auteurs soulignent deux problèmes : les simulations ont été faites dans un matériel et une géométrie différents de ceux utilisés expérimentalement. Les limites du code de calcul PENELOPE aux faibles énergies. En effet, en dessous du keV, les sections efficaces ne sont pas connues précisément.

5.3 Problématique de la partie microdosimétrique

La première question posée est :

“Est-il important, au niveau dosimétrique, de considérer la microdistribution de l’élément lourd pour la radiothérapie stéréotaxique par rayonnement synchrotron ?”

Comme expliqué précédemment, nous nous intéressons dans cette thèse à l’utilisation d’agents de contraste communément utilisés en radiologie en tant que porteurs d’éléments lourds pour augmenter, par interaction photoélectrique, la dose déposée dans le tumeur. Les éléments lourds restent dans l’espace extracellulaire du tissu, à l’extérieur des cibles, c’est-à-dire des cellules. On peut reformuler la première question :

“Est-ce que les particules secondaires générées sur les atomes d’iode extérieurs aux cellules auront un parcours suffisant pour atteindre les cibles ? Un plan de traitement macro-dosimétrique est-il suffisant ?”

Au niveau dosimétrique, pour prendre en compte la présence d’éléments lourds, on détermine leur concentration macroscopique. A l’heure actuelle, deux techniques sont utilisées : le scanner à rayons-X ainsi que la tomographie quantitative que l’on peut utiliser au synchrotron. On pourrait imaginer utiliser aussi la tomographie par émission de positons en utilisant un élément radioactif ou encore l’imagerie par résonance magnétique si l’on considérait l’usage du gadolinium.

Une fois la concentration connue, on peut effectuer le plan de traitement et ainsi calculer, pour une géométrie d’irradiation, la dose déposée dans n’importe quel voxel du patient. La notion de voxel est importante car la dose est reliée à la masse du volume considéré et ainsi au volume considéré. Pour pouvoir simuler un plan de traitement avec un temps de calcul raisonnable, on ne peut pas utiliser une géométrie trop complexe ou encore multiplier le nombre de voxels indéfiniment. Pour donner un ordre d’idée, pour l’étude macroscopique, nous avons utilisé des voxels d’environ 1 mm^3 . Nous travaillons donc bien avec des données macroscopiques et nous ne pouvons, avec les moyens actuels et dans des temps raisonnables, faire un plan de traitement sur un patient discrétisé avec des voxels de l’ordre de la dizaine de microns (de la taille d’une cellule).

C’est pourquoi nous ne pouvons pas faire les plans de traitement en prenant en compte la distribution de l’élément lourd à l’échelle microscopique et qu’il est important d’estimer l’erreur de calcul commise lorsqu’on ne tient pas compte de sa micro-bio-distribution. On peut estimer l’erreur en comparant l’augmentation de dose pour une concentration macroscopique moyenne déterminée avec une technique d’imagerie citée précédemment et l’augmentation de dose en considérant la micro-bio-distribution réelle de l’élément lourd. La figure 5.18 illustre le lien entre une concentration déterminée macroscopiquement et la micro-concentration en iode lorsque l’on tient compte de la porosité du tissu.

La question à laquelle nous essaierons de répondre est donc la suivante :

“Quelle erreur faisons-nous lorsque nous réalisons des plans de traitement en considérant la distribution macroscopique de l’iode ?”

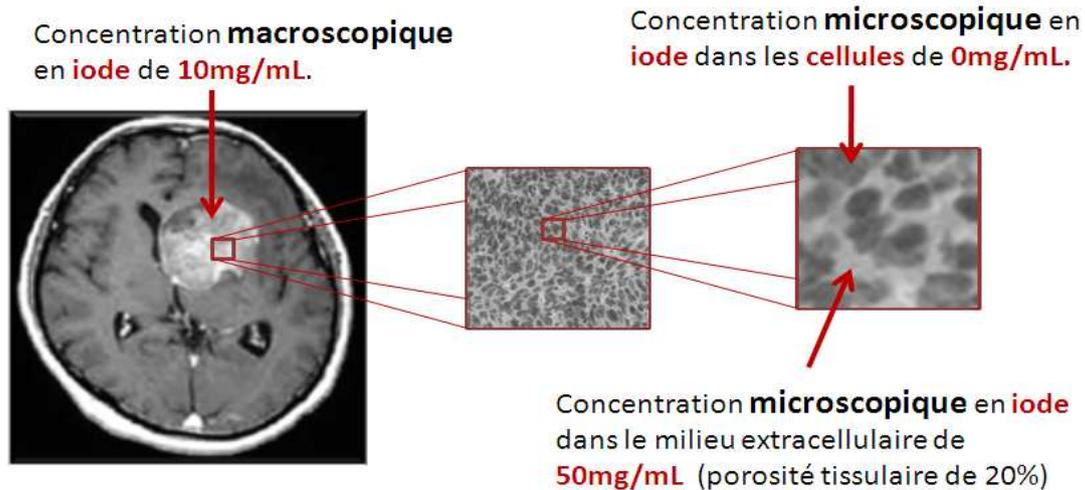


Figure 5.18 – De la concentration macroscopique en iode à la concentration microscopique.

La seconde question est :

“Cette approche, permet-elle de mieux simuler les survies cellulaires mesurées *in vitro* ?”

Il existe toujours une différence entre les résultats expérimentaux et les simulations. L'évaluation du facteur d'augmentation en dose expérimentale est systématiquement inférieure au facteur d'augmentation en dose (FAD ou DEF en anglais) simulé ou théorique. Ceci peut évidemment s'expliquer par l'incertitude des expérimentations biologiques ou encore des effets biologiques qu'il est difficile à estimer mais aussi par l'évaluation dosimétrique. Le calcul dosimétrique peut comporter deux sources d'erreurs : une mauvaise représentation de la géométrie (considérer le milieu homogène par exemple) et les erreurs de calculs dépendant du code utilisé. La seconde partie de ce travail sera consacrée à l'estimation du DEF, en considérant la micro-bio-distribution de l'iode et à la comparaison des résultats théoriques et expérimentaux.

Enfin, ce travail nous permettra d'étudier d'un point de vue micro-dosimétrique l'efficacité du traitement suivant l'énergie des photons utilisés.

Chapitre 6

Étude microdosimétrique prenant en compte la répartition de l'élément lourd

Sommaire

6.1 Rendements en profondeur à l'échelle micrométrique	131
6.2 Validation de calculs micro dosimétriques avec MCNPX, paramètres de simulations	135
6.2.1 Traitement du transport des électrons dans MCNPX	135
6.2.2 Influence de la discrétisation des volumes	137
6.2.3 Nombre de cellules nécessaire	137
6.3 Définition des variables et géométries utilisées.	140
6.3.1 Facteur d'augmentation en énergie (FAE)	140
6.3.2 Géométries	141
6.4 Facteurs d'augmentation en énergie pour une concentration en iode connue, dans l'espace interstitiel des cellules	145
6.4.1 FAE suivant la porosité pour 10 mg/mL d'iode dans l'espace interstitiel	145
6.4.2 FAE en fonction de la concentration en iode, application au modèle <i>in vitro</i>	148
6.5 Facteurs d'augmentation en énergie pour une concentration macroscopique connue	169
6.5.1 FAE suivant la porosité et l'énergie des photons incidents, pour une concentration macroscopique de 10 mg/mL	169
6.5.2 FAE en fonction de la concentration en iode pour un modèle <i>in vivo</i>	173
6.6 Facteurs d'augmentation en énergie au niveau du noyau cellulaire	175
6.6.1 Géométrie utilisée et paramètres d'irradiation	175
6.6.2 Résultats et interprétations des simulations	175
6.7 Conclusion	176

Nous avons étudié, dans ce chapitre, l'influence de la distribution réelle de l'iode sur l'énergie reçue par les cellules en prenant en compte le fait que les molécules iodées restent à l'extérieur des cellules et donc à distance des cibles cellulaires.

Dans un premier temps, nous avons comparé les simulations aux mesures expérimentales faites sur des modèles *in vitro*. Deux modèles ont été étudiés : un modèle 1D de cellules en suspension et un modèle 3D poreux de micro-métastases. Nous avons estimé l'augmentation du dépôt en énergie dans les cellules en fonction de leur environnement (modèle 1D ou 3D), de l'énergie des photons incidents et de la concentration en iode dans le milieu dans lequel sont irradiées les cellules.

Le second point de cette étude a consisté à estimer l'influence de la micro-bio-distribution de l'iode sur la dose déposée dans les cellules tumorales. Pour évaluer l'augmentation de dose dans la tumeur, nous considérons jusqu'alors la concentration macroscopique de l'iode dans la tumeur déterminée à l'aide d'un outil d'imagerie tel que la tomographie-X. Le tissu tumoral était donc considéré comme un tissu homogène et avec une concentration en iode constante. Nous avons fait varier le volume extracellulaire (milieu iodé) et le volume occupé par les cellules. Ceci revient à considérer un milieu "poreux" dont on fait varier le coefficient de porosité. Prendre en compte la porosité consiste à calculer une concentration microscopique équivalente présente dans le milieu extracellulaire telle que la concentration macroscopique soit celle déterminée par l'outil d'imagerie. Cette étude permet d'estimer l'erreur obtenue si les plans de traitement sont réalisés sans tenir compte de la micro-bio-distribution de l'iode.

Nous avons aussi étudié l'optimum en terme d'énergie d'irradiation au niveau microscopique.

6.1 Rendements en profondeur simulés à l'échelle micrométrique

Des rendements en profondeur, dans un volume d'eau contenant une épaisseur de 1 ou 10 μm d'iode, ont été simulés pour appréhender, dans une géométrie simple, l'influence au niveau dosimétrique de la présence d'iode pour des photons incidents de 34, 50 et 80 keV. Ces énergies ont été choisies pour des raisons bien précises : 34 keV est l'énergie juste au dessus du seuil K de l'iode, 50 keV l'énergie optimale en terme de différence d'absorption entre l'iode et l'eau et 80 keV est un compromis, trouvé dans la partie I, entre l'augmentation de dose dans la tumeur et la protection de l'os.

Des rendements en profondeur discrétisés par pas de un micron sont ici présentés pour des simulations faites dans un volume d'eau ($1.5 \times 1.5 \times 5 \text{ cm}^3$) placé dans l'air. La profondeur à laquelle ont été faites les simulations a été choisie d'après les rendements discrétisés par pas de 1 mm dans tout le volume et pour les 3 énergies. La profondeur a été choisie pour être à l'équilibre électronique et pour que le faisceau ne soit pas trop atténué. C'est donc à 0.5 cm, qu'une fine épaisseur d'iode (1 ou 10 μm) est placée.

La figure 6.1 illustre la géométrie utilisée pour les simulations micrométriques en présence de 1 micron de solution iodée à 10 mg/mL. Un volume de $101 \mu\text{m} \times 5 \text{ mm} \times 5 \text{ mm}$ (selon z , x , y) est centré à 5 mm de profondeur par rapport à l'entrée du volume d'eau. Le volume central contient un mélange d'eau et d'iode (10 mg/mL); les autres voxels contiennent de l'eau. Le dépôt d'énergie est étudié sur 50 μm avant et après la zone iodée ainsi que dans celle-ci. Les résultats obtenus pour 1 μm d'iode sont présentés figure 6.2. Nous avons d'autre part évalué la différence d'énergie déposée lorsque la zone centrale contient ou non de l'iode.

La différence relative est calculée comme suit :

$$Différence\ relative = \frac{(E_{déposée\ iode} - E_{déposée\ eau})}{E_{déposée\ eau}} \times 100.$$

Ces simulations ont aussi été effectuées pour un volume contenant de l'iode de $10\ \mu m \times 5\ mm \times 5\ mm$. La volume voxelisé est donc $110\ \mu m \times 5\ mm \times 5\ mm$ suivant (z, x, y) . La figure 6.3 présente les résultats obtenus.

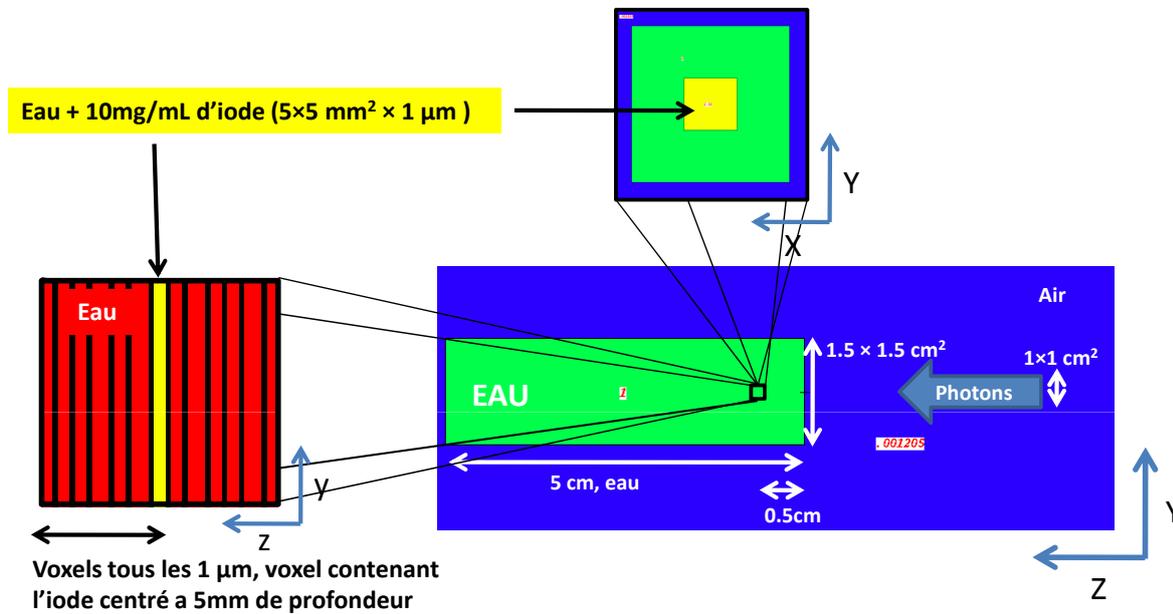
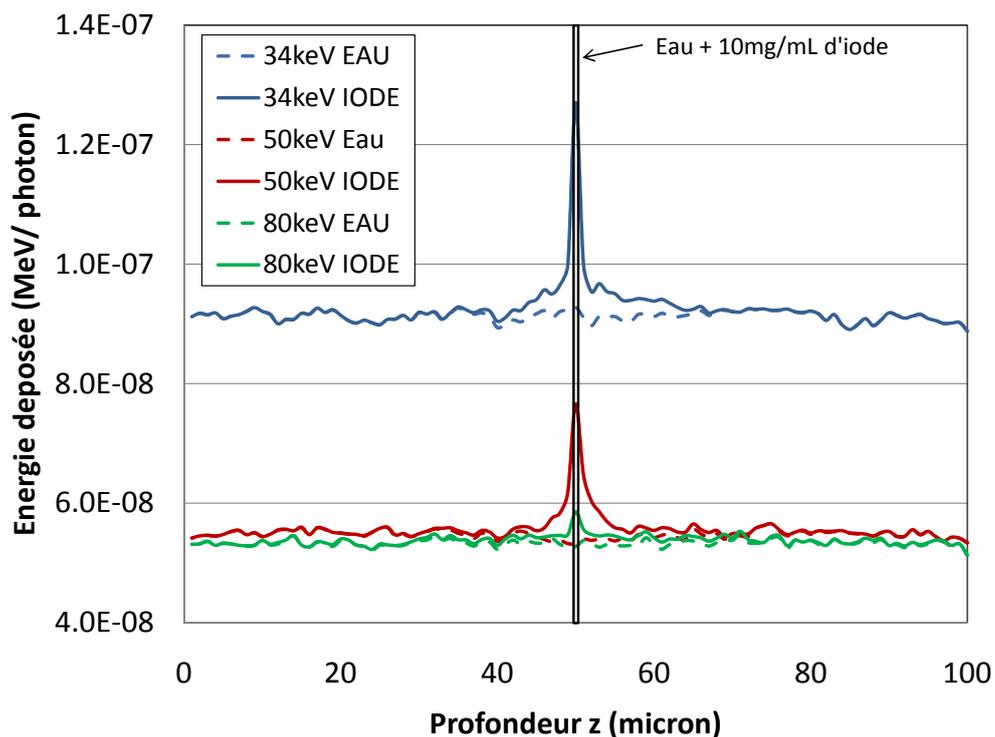


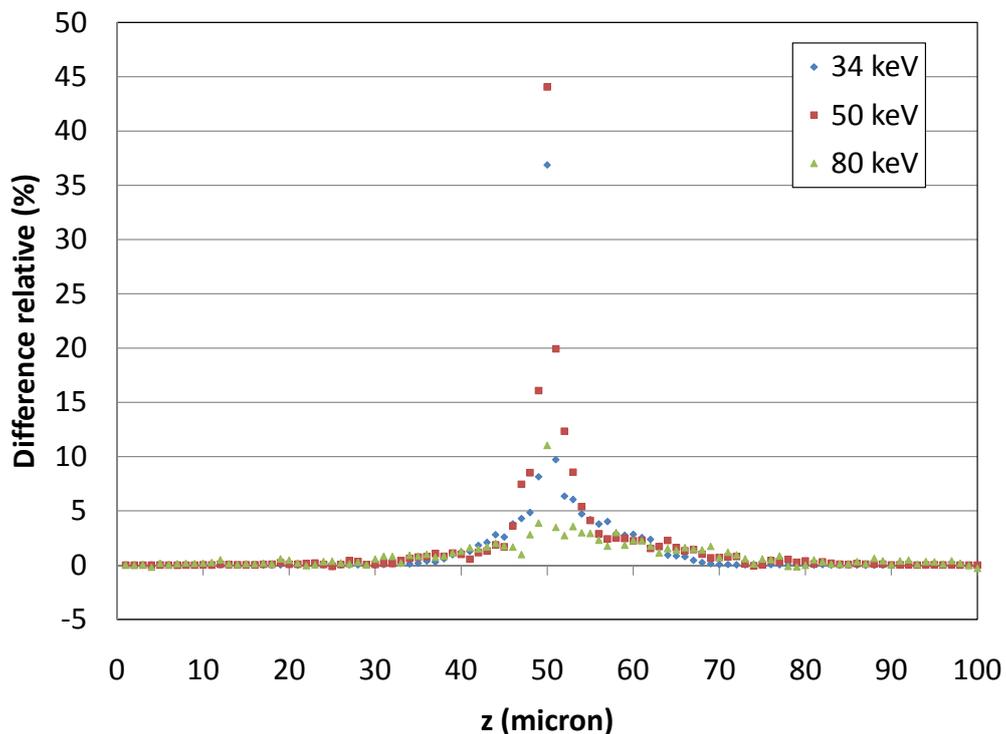
Figure 6.1 – Géométrie MCNPX utilisée pour le rendement en profondeur microscopique ($100\ \mu m$ en profondeur, par pas de $10\ \mu m$)

A $34\ keV$, l'énergie est déposée beaucoup plus localement qu'à $50\ keV$ ou $80\ keV$. De plus, l'augmentation d'énergie déposée est plus grande à $50\ keV$ qu'à $34\ keV$. Il ne semble donc pas intéressant de travailler à $34\ keV$ puisque l'augmentation d'énergie déposée est inférieure à celle obtenue à $50\ keV$ et plus localisée. Il est important que le dépôt d'énergie ne soit pas trop localisé pour que les photoélectrons puissent atteindre les cibles cellulaires.

En amont des $10\ \mu m$ de milieu iodé, l'augmentation de l'énergie déposée est similaire entre les photons incidents de $50\ keV$ et $80\ keV$ ($< 4\%$ jusqu'à $35\ \mu m$ de profondeur et $< 11\%$ jusqu'à $47\ \mu m$). Juste en périphérie de la zone iodée, on a 42% et 19% en amont, 59% et 28% en aval de différence relative pour $50\ keV$ et $80\ keV$ respectivement. L'augmentation d'énergie déposée en aval est de $\sim 2.5\%$ à $50\ \mu m$ après la zone iodée pour une irradiation à $80\ keV$. A $50\ keV$, l'augmentation d'énergie déposée s'arrête à $\sim 35\ \mu m$ ($\sim 18\ \mu m$ à $34\ keV$). Si l'on considère, en situation de traitement, que l'iode reste à l'extérieur des cellules et que le diamètre d'une cellule est d'environ $10\ \mu m$, utiliser un faisceau de $50\ keV$ ou $80\ keV$ semble intéressant puisque les électrons mis en mouvement pourront traverser au moins une couche de cellules. A $50\ keV$, l'énergie déposée est plus locale mais plus importante qu'à $80\ keV$ (augmentation de $\sim 120\%$ et $\sim 40\%$ respectivement). Nous étudierons dans des géométries plus proches de la réalité tissulaire, quelle stratégie est la plus efficace entre une augmentation de dose déposée plus localement mais plus élevée ($50\ keV$) ou une augmentation plus à distance mais plus faible ($80\ keV$).

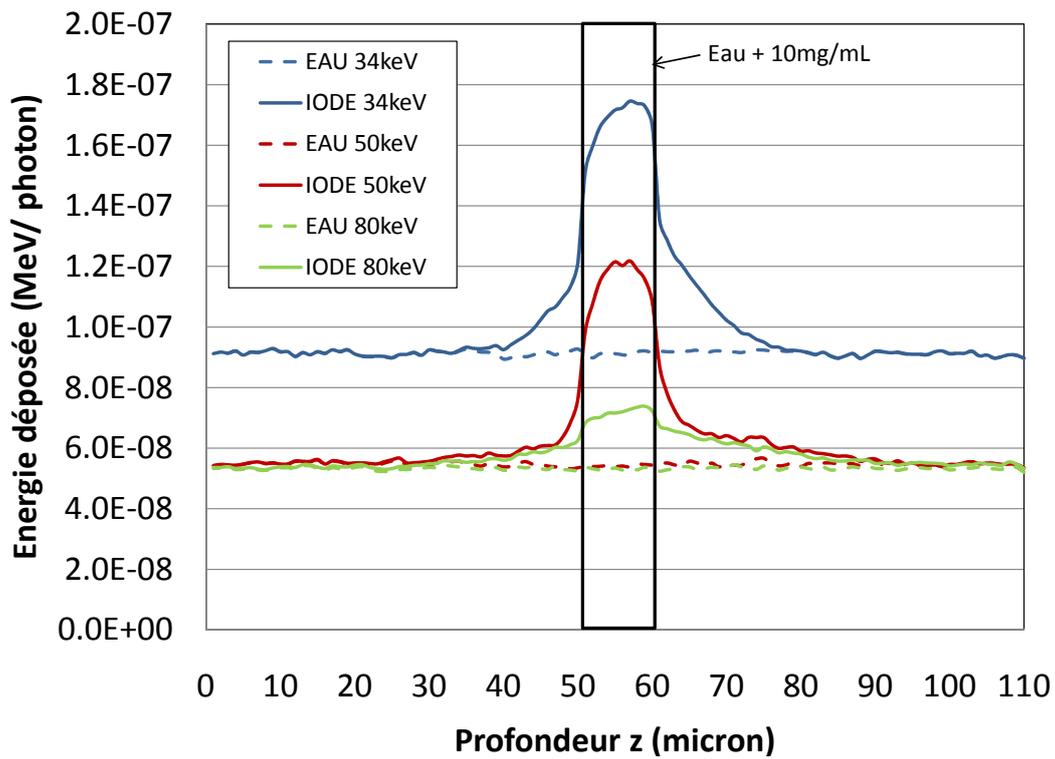


a) Rendements en profondeur

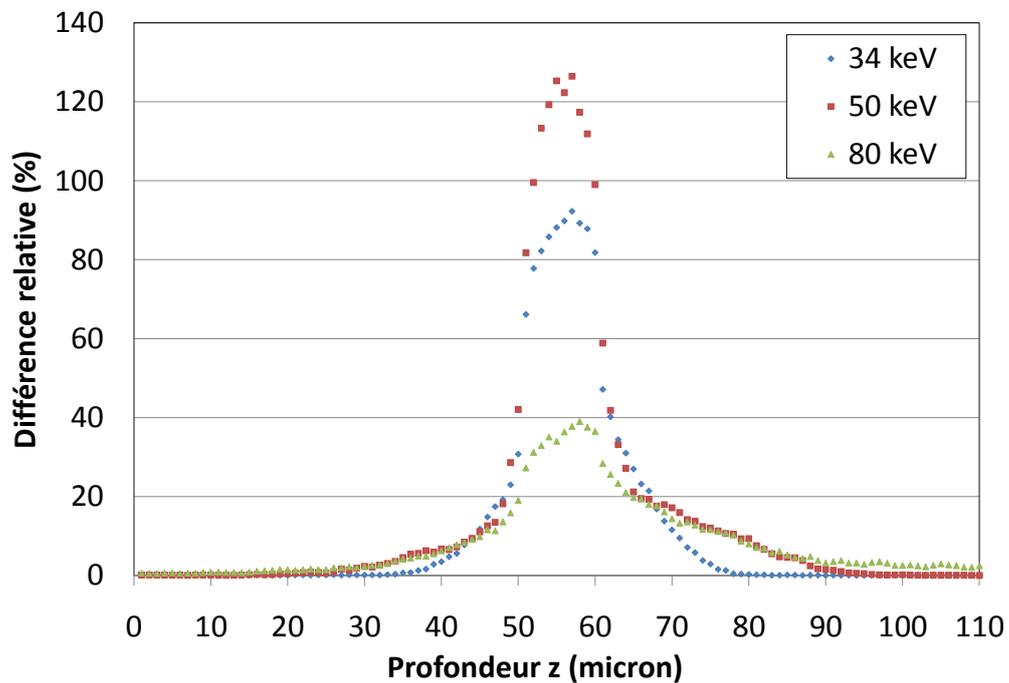


b) Différences relatives entre les rendements avec et sans iode.

Figure 6.2 – a) Rendements en profondeur et b) différences relatives entre les rendements avec et sans iode avant et après 1 voxel de 1 micron d'épaisseur contenant 10 mg/mL d'iode.



a) Rendements en profondeur



b) Différences relatives entre les rendements avec et sans iode.

Figure 6.3 – a) Rendements en profondeur et b) différences relatives entre les rendements avec et sans iode avant et après 10 voxels de 1 micron d'épaisseur contenant 10 mg/mL d'iode.

6.2 Validation de calculs microdosimétriques avec MCNPX, paramètres de simulations

Nous allons détailler, dans ce chapitre, comment le code MCNPX discrétise le transport des particules secondaires (électrons) et comment il est possible de le moduler. Puis nous évaluerons s'il est possible de travailler avec MCNPX avec des volumes de l'ordre de $10 \times 10 \times 10 \mu m^3$ ainsi que le nombre de volumes nécessaire pour obtenir une statistique suffisante.

6.2.1 Traitement du transport des électrons dans MCNPX et paramètre ESTEP

La difficulté du transport des électrons dans les tissus ou la matière est due au grand nombre d'interactions qu'ils subissent par la force de Coulomb. Pour donner un ordre d'idée, un électron perd 0.4 MeV en environ 10^5 interactions, comparé à une trentaine de collisions pour des neutrons et moins de 10 pour des photons. Simuler ces interactions est d'une grande complexité et impossible pour des applications dosimétriques à grand nombre de particules. C'est pourquoi différents travaux analytiques et semi-analytiques ont été menés pour pouvoir transporter ces particules chargées. Ces théories utilisent les sections efficaces fondamentales ainsi que la nature statistique du processus de transport pour prédire les distributions de probabilité pour des paramètres tels que l'énergie perdue ou l'angle de déflexion.

Dans MCNPX, les théories les plus importantes sont celles de Goudsmit-Saunderson [Goudsmit and Saunderson, 1940] pour le calcul des angles de déflexion, la théorie de Landau [Landau, 1944] pour les pertes d'énergie ainsi que l'amélioration de cette dernière avec les travaux de Blunck-Leisegang [Blunck and Leisegang, 1950].

Le principe utilisé dans ces théories, est de suffisamment discrétiser le parcours des électrons. Ainsi, pour un pas, le parcours d'une particule est suffisamment long pour subir de nombreuses collisions (condition de validité de la théorie de diffusion multiple) mais suffisamment court pour que l'énergie perdue reste petite. Le fait de condenser des collisions individuelles en une étape, "step", de manière probabiliste est appelé méthode Monte Carlo d'histoires condensées ou "condensed history Monte Carlo method".

La perte en énergie dépend du matériau et de l'énergie cinétique de la particule considérée, elle est exprimée par le pouvoir d'arrêt en énergie par unité de longueur ($-dE/ds$). MCNPX choisit la longueur du step tel que : $\frac{E_n}{E_{n-1}}=k$, avec $k=2^{-1/8}$ (soit une perte moyenne en énergie de 8.3%). Ce step correspond au "major-step" et est de nouveau échantillonné en substeps plus petits. Les angles de déflexion et la production de particules secondaires sont échantillonnés au niveau de ces substeps. La longueur de ces substeps est s/m avec s la longueur du major step et m le nombre de substeps. m dépend du matériau (du nombre atomique Z moyen). Les valeurs par défaut, déterminées empiriquement, sont $m=2$ pour $Z<6$ et $m=15$ pour $Z>91$. m correspond au paramètre appelé "ESTEP".

Dans certaines circonstances, il est nécessaire d'augmenter le nombre de substeps pour un matériau donné. En particulier, en présence de régions de petites tailles, pour calculer précisément la trajectoire de la particule, il faut discrétiser son parcours.

Le code MCNPX utilise une quantité appelée DRANGE qui correspond à la taille des steps en énergie et s'exprime en g/cm^2 . La quantité $DRANGE/\rho$ est la longueur du substep en cm. Cette quantité doit être comparée à la plus petite dimension de la région considérée. Le nombre de substeps dans cette région doit au moins être de 10.

La figure 6.4 représente la quantité DRANGE en fonction de l'énergie des électrons.

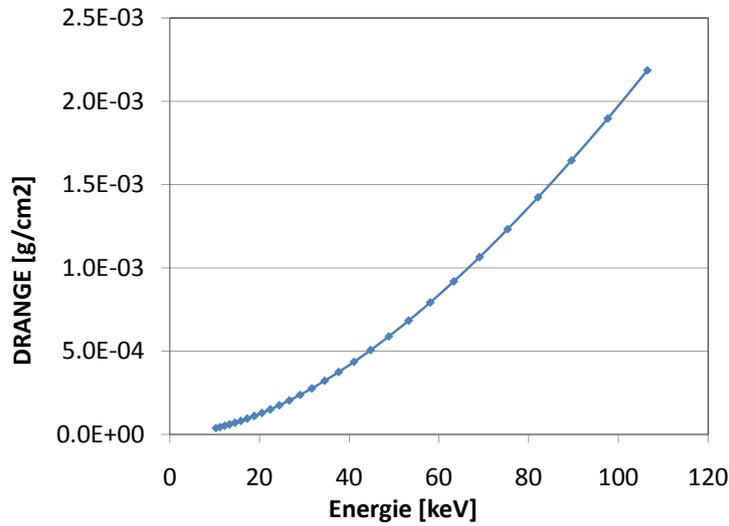


Figure 6.4 – DRANGE en fonction de l'énergie des électrons.

La dimension la plus petite utilisée dans notre étude est $1 \mu m$. La longueur de substep choisi est donc $1 \mu m/10$ soit $0.1 \mu m$. La valeur de ESTEP nécessaire pour chaque matériau (eau et eau iodée) et chaque énergie d'électron est calculée d'après l'équation 6.1 et représentée sur la figure 6.5.

$$ESTEP = \frac{Drange}{\rho \times l} \quad (6.1)$$

avec l , la longueur du substep voulue (ici, $0.1 \mu m$).

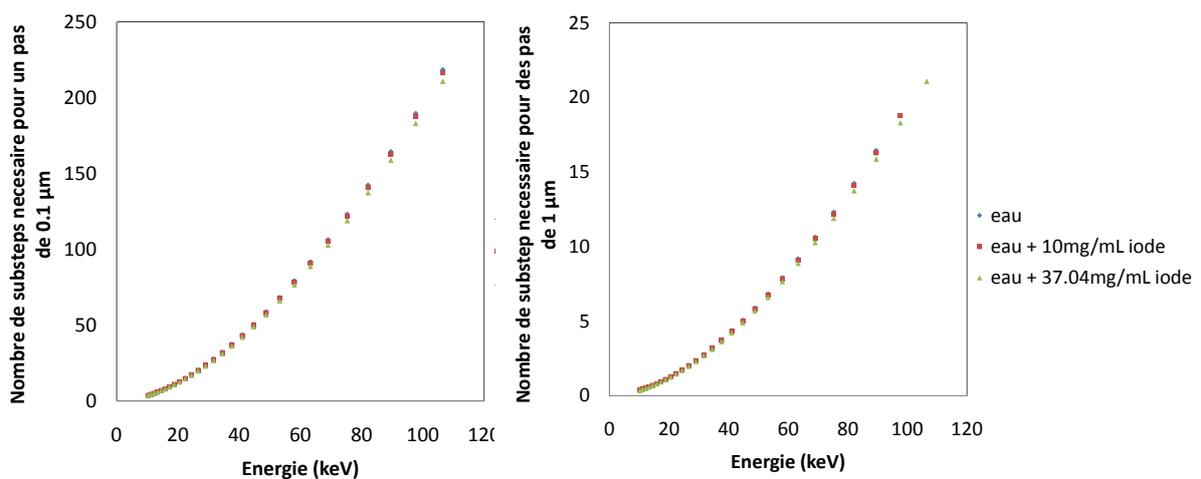


Figure 6.5 – Nombre de substeps nécessaire pour obtenir une discrétisation du parcours des électrons par pas de $0.1 \mu m$ ou $1 \mu m$, en fonction de l'énergie des électrons et de la concentration en iode.

Les valeurs utilisées dans notre étude sont présentées dans le tableau 6.1. Les valeurs du paramètre ESTEP étant très faiblement dépendantes de la présence d'iode aux concentrations étudiées (< 40 mg/mL), elles seront choisies uniquement en fonction de l'énergie dans un milieu non iodé.

Energie des photons	34 keV	50 keV	80 keV
ESTEP	30	60	120

Tableau 6.1 – Valeurs de ESTEP utilisées pour un pas de $0.1 \mu m$.

6.2.2 Influence de la discrétisation des volumes à l'échelle micrométrique

Une première étape a d'abord permis de valider l'utilisation de MCNPX avec des volumes de l'ordre de $10 \times 10 \times 10 \mu m^3$. Pour cela, nous avons comparé l'énergie déposée dans un volume non discrétisé ($1 \times 1 \times 0.01 mm^3$) puis discrétisé par une matrice de $10 \times 10 \times 1$ voxels de $100 \times 100 \times 10 \mu m^3$ et une matrice de $100 \times 100 \times 1$ voxels de $10 \times 10 \times 10 \mu m^3$. Les différences relatives obtenues entre les énergies déposées dans les deux réseaux et le volume non discrétisé sont répertoriées dans le tableau 6.2 et sont inférieures à 1% (calculs effectués en prenant le volume non-discrétisé comme référence).

	Différence relative
100 voxels	0.04%
10000 voxels	0.16%

Tableau 6.2 – Différence relative en % obtenues entre un volume non discrétisé de $0.01 mm^3$ et ce même volume discrétisé avec 100 ou 10000 voxels.

Simuler le transport de particules avec le code MCNPX est donc possible dans des géométries contenant des volumes de $10 \times 10 \times 10 \mu m^3$.

6.2.3 Nombre de cellules nécessaire

Lorsque le volume considéré est de très petite masse (cf figure 6.6), la probabilité d'avoir des interactions dans le volume considéré devient faible comparé à la dosimétrie "macroscopique"; c'est ce qui rend le calcul stochastique (cf chapitre 5).

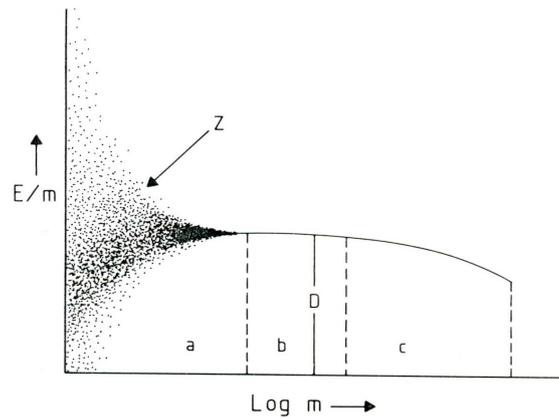


Figure 6.6 – Variation de la dose en fonction de la masse du volume d'intérêt (ICRU 36).

Il est donc nécessaire d'augmenter la statistique. On peut augmenter le nombre de particules incidentes et/ou augmenter le nombre de volumes (ici cellules). Dans cette étude, 10^9 photons ont été simulés (ce qui correspond à un temps de simulation acceptable) et la taille du faisceau a été diminuée le plus possible ($500 \times 500 \mu\text{m}^2$); ce qui correspond à une fluence de $4 \times 10^{11} \text{ photons/cm}^2$.

Le nombre de cellules nécessaire a été estimé en comparant l'énergie déposée dans différents volumes discrétisés en voxels de $10 \times 10 \times 10 \mu\text{m}^3$ (soit 1000, 4096 ou 8000 voxels ou des réseaux de $10 \times 10 \times 10$, $16 \times 16 \times 16$, $20 \times 20 \times 20 \text{ voxels}$) avec l'énergie déposée dans le même volume non discretisé. Puis, les résultats ont été comparés à ceux obtenus en calculant l'énergie déposée dans les cellules contenues dans les voxels (une sphère de $10 \mu\text{m}$ de diamètre dans chaque voxel de $10 \times 10 \times 10 \mu\text{m}^3$) multiplié par le rapport des volumes entre les voxels et les cellules (cf figure 6.7, un exemple pour 4 voxels). Le but du calcul dans les cellules est de valider la façon de définir la géométrie (les cellules sont définies via les univers de chaque voxel, cf annexe). Succinctement, la composition (matériau) du voxel est défini par son univers. Dans la géométrie contenant des cellules, l'univers de chaque voxel est défini par deux sous volumes de masses volumiques qui peuvent être différentes : la cellule et l'espace entre la cellule et les bords du voxel représentant l'espace interstitiel.

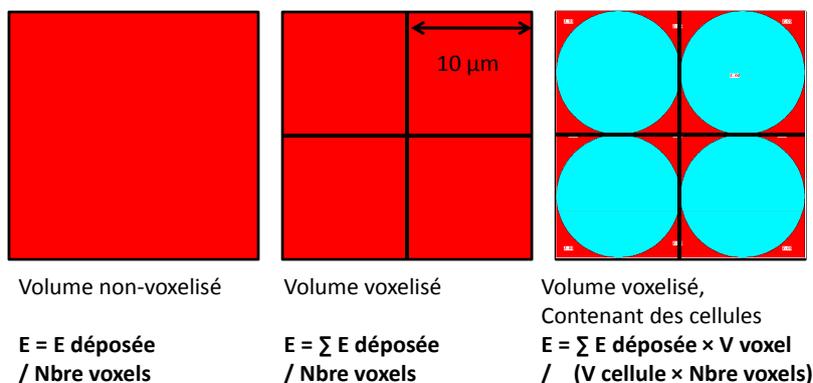


Figure 6.7 – Les 3 géométries comparées, 3 calculs d'énergie déposée différents (le nombre de voxels est 4 pour cet exemple).

Le réseau est irradié en mode tomographique (sur 360°) et il est centré dans un tube contenant de l'eau (description détaillée section 6.3). Tous les différents volumes (voxels, cellules) sont remplis d'eau. Les énergies déposées par voxel "Ep" sont calculées comme suit (pour le réseau de $10 \times 10 \times 10$ voxels) :

- Volume non-voxélisé : $E_p = E / N$, avec E l'énergie déposée dans le volume non voxélisé et N le nombre de voxels qui sera utilisé pour les deux autres cas, soit 1000 voxels pour le réseau $10 \times 10 \times 10$ voxels
- Volume voxélisé : $E_p = \sum e_i / N$, avec e_i l'énergie déposée dans le voxel i et $\sum e_i$ la somme de toutes les énergies déposées dans tous les voxels du réseau, N est le nombre de voxels
- Volume contenant les cellules : $E_p = \sum e_j / N \times \frac{V_{\text{voxel}}}{V_{\text{cellule}}}$, avec e_j l'énergie déposée dans la cellule j et $\sum e_j$ la somme des énergies déposées dans toutes les cellules et N le nombre de voxels. Pour pouvoir comparer ce résultat aux deux autres, on fait l'approximation que le dépôt d'énergie est homogène dans tout le volume (les particules de bas TEL tel que les rayons-X déposent de l'énergie de manière homogène au niveau microscopique). On multiplie le résultat par le rapport des volumes entre le voxel et la cellule. On devrait donc retrouver l'énergie déposée dans les voxels.

La figure 6.8 indique les énergies déposées en MeV/voxel/photon pour les trois géométries et en fonction de la taille de réseau et du nombre de voxels. Les barres d'erreurs représentent la propagation des incertitudes du calcul Monte Carlo. Pour les deux calculs en milieu voxélisé, on effectue une somme de valeurs (énergies) ayant une incertitude associée. C'est pourquoi les barres d'erreurs sont plus importantes dans ces deux cas de figure.

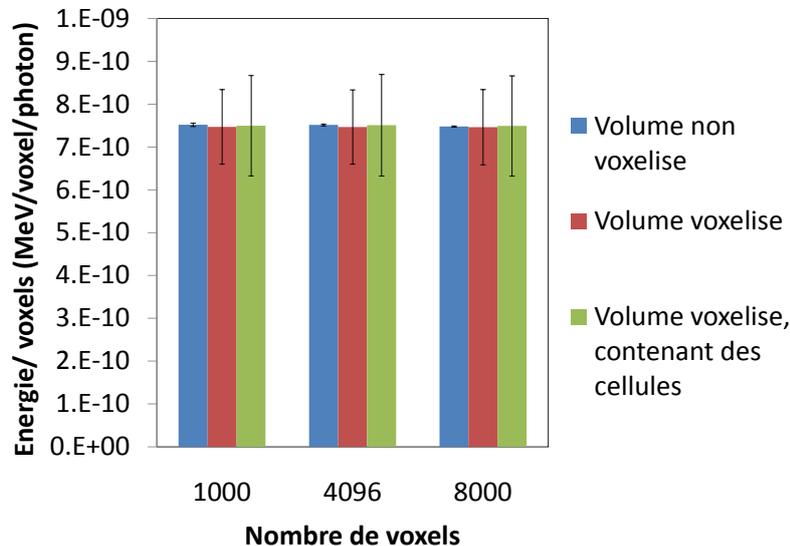


Figure 6.8 – Comparaison entre l'énergie déposée dans un volume, le même volume discrétisé en voxels de $10 \times 10 \times 10 \mu\text{m}^3$ et ce dernier contenant des cellules sphériques. Les 3 volumes étudiés sont : 1, 4.096 et $8 \times 10^6 \mu\text{m}^3$, soit des réseaux cubiques de 1000, 4096 et 8000 voxels.

Les différences relatives obtenues entre les deux réseaux et le volume de référence (non voxélisé) sont inférieures à 1%. Pour la suite des simulations, on pourra calculer l'énergie déposée dans un réseau de 1000 cellules. Ces simulations ont aussi validé le calcul dans une cellule définie à partir l'univers de chaque voxel (définition des géométries dans le code MCNPX, cf annexe).

6.3 Définition des variables et géométries utilisées.

Nous présentons ici, les variables et la géométrie utilisées pour l'étude.

6.3.1 Facteur d'augmentation en énergie (FAE)

Dans cette partie, nous parlerons de facteur d'augmentation en énergie (FAE) et non en dose. Ceci pour faciliter les interprétations car, selon que la cellule contient ou non de l'iode, la dose sera modifiée puisque la masse du volume considéré sera changée. Ces FAE sont calculés dans les cellules contenues dans le réseau. On distingue donc trois milieux : le milieu du tube dans lequel est placé le réseau, les cellules dans le réseau et l'espace interstitiel dans le réseau.

On parlera de FAEh pour facteur d'augmentation en énergie lorsque l'on considère une répartition en iode homogène ; c'est-à-dire la même concentration en iode dans la cellule et l'espace interstitiel. Ce cas revient à considérer une concentration macroscopique en iode. Le FAEh est défini comme suit :

$$FAEh = \frac{\text{Energie déposée dans les cellules avec de l'iode dans la cellule et l'espace interstitiel}}{\text{Energie déposée dans les cellules sans iode}}.$$

On parlera de FAEp pour facteur d'augmentation en énergie, en milieu poreux, lorsque l'on tient compte de la microdistribution de l'iode. Le FAEp est défini comme suit :

$$FAEp = \frac{\text{Energie déposée dans les cellules avec de l'iode uniquement dans l'espace interstitiel}}{\text{Energie déposée dans les cellules sans iode}}.$$

Nous avons choisi de considérer une concentration en iode dans le milieu poreux de telle sorte que la masse d'iode dans le voxel soit la même que pour la configuration "homogène". La porosité est une variable importante pour notre étude et caractérise le milieu poreux étudié de la façon suivante :

$$\text{porosité} = \frac{\text{Volume espace interstitiel}}{\text{Volume voxel}},$$

sachant qu'un voxel contient une cellule.

La concentration équivalente (C_{eq}) est calculée en fonction de la porosité comme suit :

$$C_{eq} = C_{I, macro} / \text{porosité},$$

avec $C_{I, macro}$, la concentration macroscopique, pour une répartition en iode homogène.

Par exemple, si l'on considère une macro-concentration en iode de 10 mg/mL, le calcul du FAEh correspond aux cas où l'on a 10 mg/mL dans la cellule et l'espace interstitiel. Le calcul du FAEp correspond, si l'on considère une porosité de 50% (la cellule occupe 50% du voxel), à 20 mg/mL d'iode dans l'espace interstitiel et 0 mg/mL dans la cellule (cf figure 6.9).

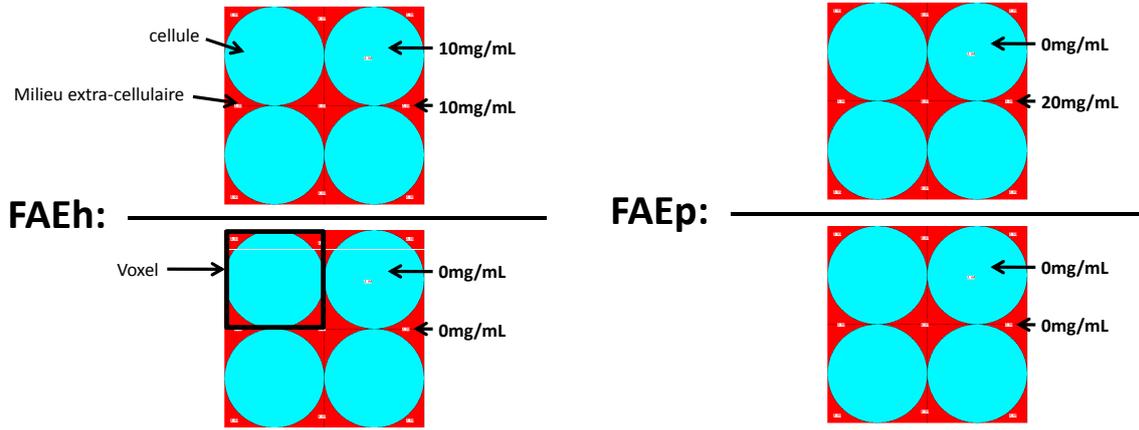


Figure 6.9 – Illustration des géométries utilisées pour calculer les Facteurs d'Augmentation en Énergie Homogène et en tenant compte de la Porosité (FAEh et FAEp) pour une concentration macroscopique équivalente de 10 mg/mL et une porosité de 50%.

Pour faciliter la lecture, nous utiliserons une convention de notation qui est la suivante : $(C_{cellule} | C_{espace\ interstitiel} | C_{tube})$, avec $C_{cellule}$, $C_{espace\ interstitiel}$, C_{tube} les concentrations en iode et en mg/mL dans la cellule, l'espace interstitiel et le tube respectivement. Par exemple, pour le calcul du FAEp décrit figure 6.9, nous le noterons comme suit : $\frac{(0|20|10)}{(0|0|0)}$, si l'on considère 10 mg/mL d'iode dans le tube.

6.3.2 Géométries

Pour chaque simulation, l'irradiation se fait en mode tomographique (360°) et 10^9 photons sont simulés avec un faisceau de $500 \times 500 \mu m^2$. Pour les concentrations en iode, deux cas sont étudiés :

- le cas où l'on calcule la concentration en iode de l'espace interstitiel de telle manière que la quantité d'iode dans le voxel soit identique pour le FAEh et FAEp
- le cas où la concentration en iode de l'espace interstitiel est identique à celle considérée pour le calcul du FAEh (où la quantité en iode par voxel dépend de la porosité).

La porosité Utiliser des cellules sphériques limite la porosité à 48%. En effet, le rapport du volume de la sphère sur le volume du voxel, avec le diamètre de la sphère égal au côté du voxel cubique, est toujours égal à 0,52 ce qui correspond à une porosité de 48%. Avec des cellules cubiques, on peut arriver à obtenir des porosités plus proche des porosités des tissus observées *in vivo* (20%).

La différence entre les FAE calculés (FAEh et FAEp) pour des cellules cubiques et sphériques (pour une porosité équivalente) est inférieure à 0.5%, pour une irradiation en mode tomographique à 80 keV. Nous avons par la suite utilisé des cellules cubiques permettant de faire varier d'avantage la porosité.

Différentes porosités ont été étudiées : 30, 49, 62, 70, 81, 90 et 95% correspondant à des dimensions différentes de voxels pour une taille de cellule constante (cf tableau 6.3, figure 6.10). Les dimensions du réseau ($10 \times 10 \times 10$ voxels) ainsi que l'espace interstitiel entre deux cellules sont indiqués. Les concentrations équivalentes, pour une concentration macroscopique homogène de 10 mg/mL, sont aussi indiquées dans ce tableau (concentrations utilisées pour le cas où la quantité d'iode par voxel est constante entre la géométrie utilisée pour le calcul du FAEh et FAEp).

Porosité (%)	30	49	62	70	81	90	95
Cellule cubique (μm)	8	8	8	8	8	8	8
Voxel cubique (μm)	9	10	11	12	14	17	22
Espace interstitiel (μm)	1	2	3	4	6	9	14
Dimension du réseau (μm)	90	100	110	120	140	170	220
Concentration interstitielle (mg/mL)	33.33	20.13	16.13	14.29	12.35	11.11	10.53

Tableau 6.3 – Dimension des voxels cubiques (en μm) contenant les cellules cubiques de dimensions constantes en fonction de la porosité. Dimensions du réseau, espace interstitiel et concentrations équivalentes à une concentration macroscopique de 10 mg/mL.

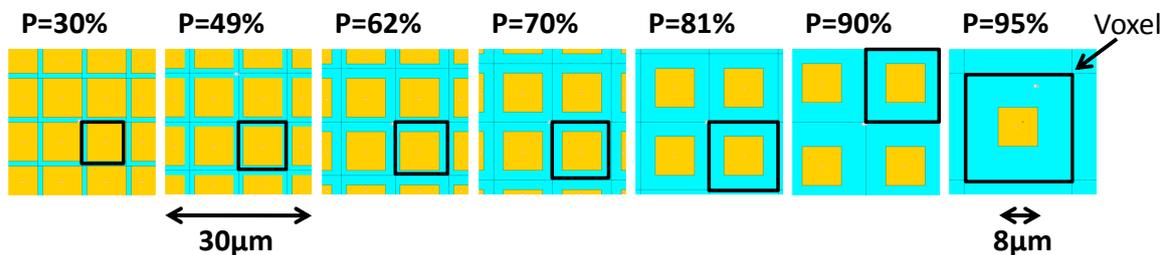


Figure 6.10 – Zoom du réseau en fonction de la porosité, pour des cellules cubiques de $8 \mu\text{m}$ de côté.

Pour les simulations, où l'on considère que les concentrations dans l'espace interstitiel et dans le tube sont identiques (par exemple 10 mg/mL quel que soit la porosité), la différence entre le FAEh et le FAEp est la présence ou non de 10 mg/mL d'iode dans la cellule (on n'utilise pas dans ce cas les concentrations équivalentes). La figure 6.11 représente la quantité d'iode présent dans un voxel et la concentration macroscopique équivalente pour une concentration du milieu extracellulaire constante de 10 mg/mL, en fonction de la porosité, de la taille du voxel. On remarque ainsi que la concentration macroscopique varie linéairement, ce qui n'est pas le cas de la quantité en iode.

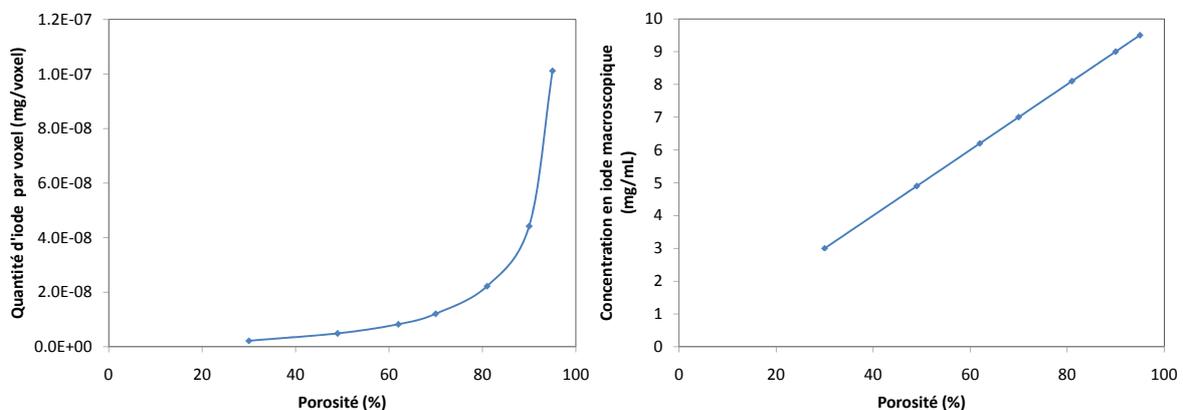


Figure 6.11 – Quantité en iode par voxel et concentration macroscopique équivalente en fonction de la porosité lorsque la concentration extracellulaire vaut 10mg/mL.

Milieu diffusant Un réseau de $10 \times 10 \times 10$ cellules cubiques est placé au centre d'un tube pour simuler le set-up expérimental utilisé pour les études *in vitro* (cf figure 6.12). On simule ainsi le spectre photonique arrivant sur les cellules dans les conditions expérimentales. Toutes les simulations ont été réalisées dans cette géométrie, avec un faisceau de dimensions $500 \times 500 \mu m^2$. Le réseau est irradié en mode tomographique avec un faisceau de photons d'énergie 34, 50 ou 80 keV.

Remarque : Cette géométrie a été conservée pour l'étude des concentrations équivalentes, en fonction de la porosité, étude qui correspond à une approche *in vivo*. Une géométrie plus complexe et surtout, une géométrie où les photons seraient plus atténués, demanderait des temps de calculs prohibitifs pour travailler à l'échelle du micron.

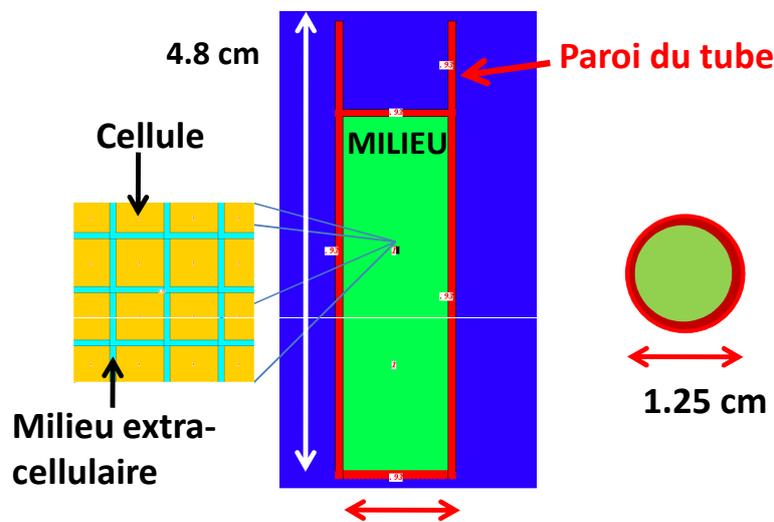


Figure 6.12 – Coupes axiale et transversale du tube utilisé dans le set-up expérimental et placé dans l'air (bleu). Le tube est cylindrique de diamètre 1.25 cm et hauteur 4.8 cm. Le réseau est placé au centre de ce tube. Le milieu dans le tube ainsi que le milieu extracellulaire (dans le réseau) et les cellules peuvent contenir indépendamment différentes concentrations d'iode.

Importance d'utiliser la même géométrie Pour estimer le FAD (facteur d'augmentation en dose utilisé dans la partie I, aussi appelé DEF) ou FAE au niveau microscopique, il est important de prendre en compte la géométrie vis-à-vis de l'évolution spectrale du faisceau ainsi que des particules secondaires. En effet, le spectre du faisceau se modifie au fur et à mesure des matériaux traversés (diminution de l'énergie moyenne pour un faisceau monochromatique). Le facteur d'augmentation de dose dépend de manière significative de la géométrie.

C'est pourquoi, les FAE obtenus dans le tube (volume entier) sont différents de ceux obtenus dans le fantôme tête utilisé dans la partie I concernant la macrodosimétrie où le faisceau a traversé beaucoup plus de matière (cf figure 6.13).

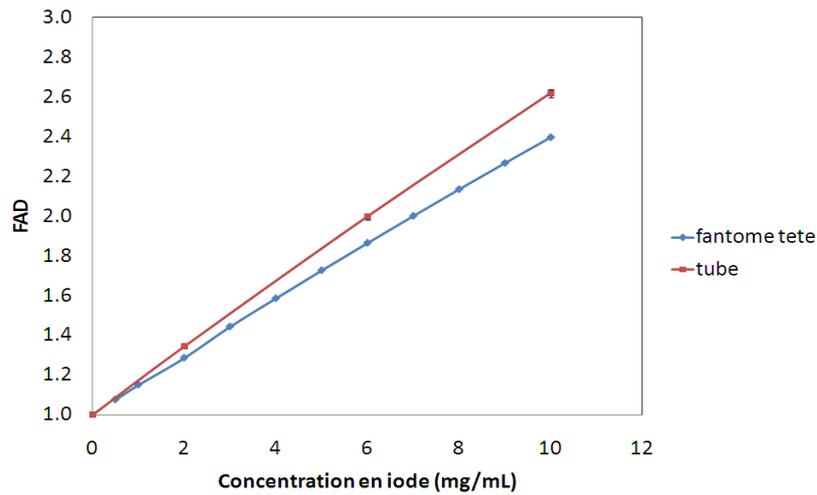


Figure 6.13 – Comparaison des facteurs d'augmentation en dose (FAD) macroscopiques obtenus dans le fantôme tête et dans le tube pour une irradiation tomographique à 50 keV.

La même géométrie (tube) sera donc utilisée pour toute l'étude de microdosimétrie pour pouvoir inter-comparer les résultats et rester dans des temps de simulation acceptables (environ 2 jours). Il faudra par contre faire attention aux valeurs de FAD obtenues qui sont, en absolue, valables uniquement pour la géométrie et pour le faisceau utilisés. On pourra par contre interpréter sans risque les tendances et valeurs relatives.

6.4 Facteurs d'augmentation en énergie pour une concentration en iode connue, dans l'espace interstitiel des cellules

Il s'agit dans cette section d'étudier l'influence de la microdistribution de l'élément lourd lorsque l'on connaît sa concentration microscopique. C'est le cas, par exemple, si l'on se base sur la concentration en élément lourd injectée par voie directe, ou encore, si l'on étudie la survie de cellules irradiées dans un milieu contenant une concentration en élément lourd connue.

Dans un premier temps, nous étudierons l'influence du paramètre "porosité" sur le calcul des facteurs d'augmentation en énergie (FAE) pour une concentration microscopique constante de 10 mg/mL (concentration de l'espace interstitiel) à 34, 50 et 80 keV.

Une seconde partie est consacrée à la comparaison des simulations aux résultats obtenus dans des expérimentations *in vitro* sur des cellules en suspension et sur un modèle *in vitro* de micrométastase (sphère compacte de cellules) avec de l'iode (Ioméron).

6.4.1 FAE suivant la porosité pour 10 mg/mL d'iode dans l'espace interstitiel

6.4.1.1 Géométrie utilisée et paramètres d'irradiation

Pour chaque cas, c'est-à-dire pour chaque porosité (de 30 à 95 %) et pour chaque énergie (34, 50 et 80 keV), trois simulations ont été faites. Elles correspondent à trois distributions d'iode différentes et permettront de calculer les FAE_h et FAE_p (via l'énergie déposée dans les cellules) :

- 0 mg/mL d'iode dans les cellules, dans l'espace interstitiel et le tube (cf figure 6.14, géométrie A), noté (0|0|0).
- 10 mg/mL d'iode dans les cellules, dans l'espace interstitiel et le tube (cf figure 6.14, géométrie B), noté (10|10|10).
- 0 mg/mL d'iode dans les cellules, 10 mg/mL dans l'espace interstitiel et le tube (cf figure 6.14, géométrie C), noté (0|10|10).

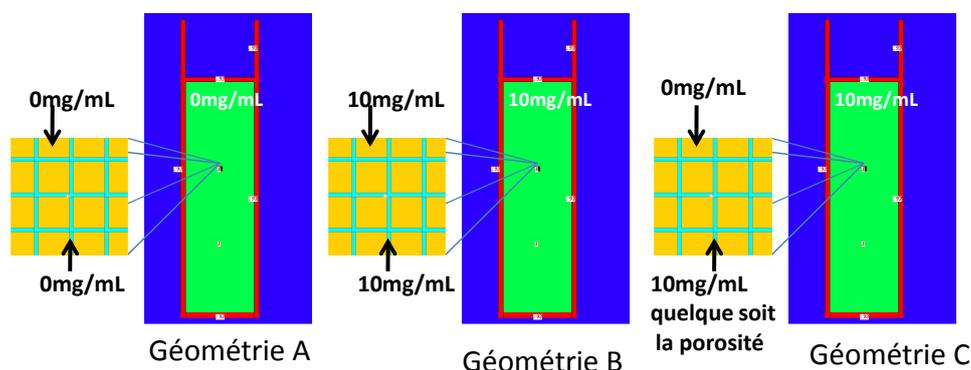


Figure 6.14 – Géométries utilisées pour l'étude de la porosité pour une concentration en iode dans l'espace interstitiel constante et égale à 10 mg/mL.

6.4.1.2 Résultats et interprétation de l'étude paramétrique

Les facteurs d'augmentation en énergie en fonction de la porosité à 34, 50 et 80 keV obtenus, sont présentés figure 6.15.

Pour les trois énergies, la valeur du FAEp augmente quand la porosité augmente. La concentration en iode dans l'espace interstitiel étant constante, la quantité d'iode dans le voxel augmente quand la porosité augmente (la taille de la cellule est constante, la taille du voxel augmente).

Dans la gamme de porosité étudiée (de 30% à 95%) les FAEp varient linéairement avec la porosité (les R^2 valent : 0.999, 0.984 et 0.992 pour 34 keV, 50 keV et 80 keV respectivement). On remarquera qu'en extrapolant ces courbes à 0% de porosité, on obtient un FAEp plus grand que 1 pour 50 keV et 80 keV. Ceci s'explique par la présence d'iode dans le tube (entourant le réseau). Plus l'énergie est grande, plus les photoélectrons générés à l'extérieur du réseau ont une énergie élevée et contribuent aux FAEp. On pourrait extrapoler les droites des FAEp à 50 et 80 keV pour estimer l'influence sur le FAEp de l'iode dans le tube (à l'extérieur du réseau). Cependant, pour faire varier la porosité, on fait varier la taille des voxels et ainsi la taille du réseau $10 \times 10 \times 10$ voxels (cf tableau 6.4). La contribution des photo-électrons générés à l'extérieur du réseau sera donc différente suivant la porosité. Des simulations complémentaires ont été effectuées pour calculer le FAEp obtenu lorsqu'il y a 10 mg/mL d'iode dans le tube mais pas d'iode dans le réseau. Les résultats obtenus sont présentés figure 6.16.

porosité (%)	30	49	62	70	81	90	95
Taille du côté du réseau (μm)	90	100	110	120	140	170	220

Tableau 6.4 – Taille du réseau en fonction de la porosité.

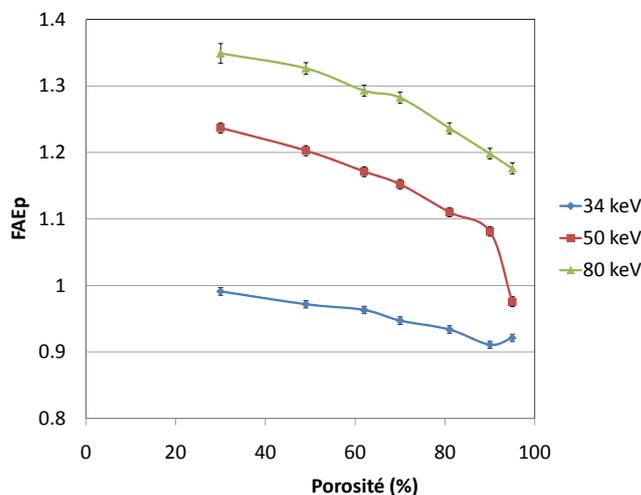
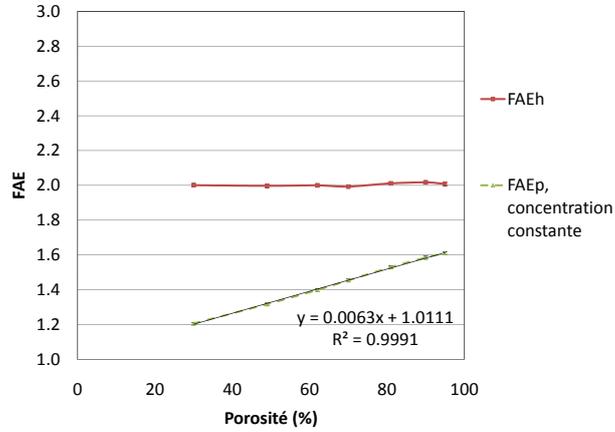
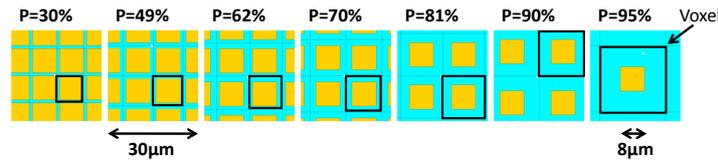


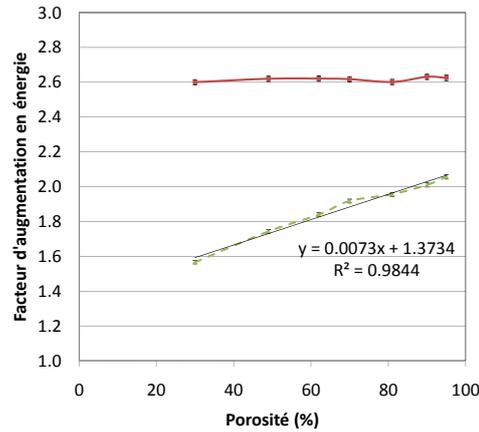
Figure 6.16 – FAEp obtenus pour 10 mg/mL d'iode dans le tube mais 0 mg/mL dans le réseau, en fonction de la porosité et de l'énergie des photons incidents.

L'énergie calculée est l'énergie déposée dans les cellules en MeV par photon simulé. La contribution de l'iode présent à l'extérieur du réseau sur le FAEp dépend de la porosité et diminue quand la taille du réseau augmente. Elle est plus importante à 80 keV qu'à 50 keV et 34 keV. Cette évolution suit l'énergie cinétique des photo-électrons générés. A 34 keV (quel que soit la porosité) et à 50 keV (95% de porosité), le FAE est inférieur à 1. L'énergie déposée lorsqu'il y a de l'iode à l'extérieur du réseau est inférieure à l'énergie déposée lorsqu'il n'y a pas d'iode dans le tube et le réseau. Les photons incidents sont

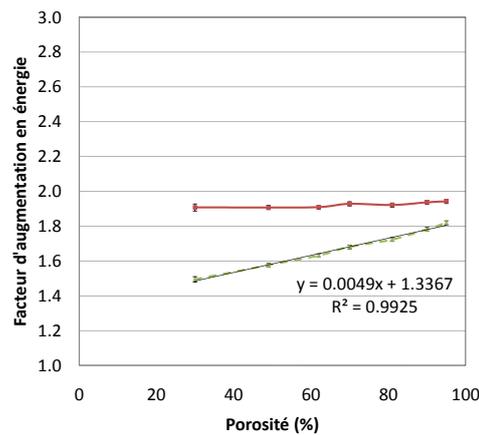
Pour rappel, les porosités sont définies comme suit :



a) 34keV



b) 50keV



c) 80keV

Figure 6.15 – Facteur d'augmentation en énergie (FAE) en fonction de la porosité et de l'énergie des photons incidents. On compare le FAEp (pour 0 mg/mL d'iode dans les cellules et 10 mg/mL d'iode dans l'espace interstitiel et le tube), noté $\frac{(0|10|10)}{(0|0|0)}$, au FAEh, noté $\frac{(10|10|10)}{(0|0|0)}$.

plus atténués avant d'atteindre le réseau lorsqu'il y a un élément lourd dans le tube. C'est ce que l'on observe à 34 keV, où le coefficient d'atténuation est plus élevé qu'à 50 et 80 keV. Le nombre de photons atteignant la cible est diminué et diminue ainsi l'énergie déposée directement dans le réseau par interaction sur les molécules d'eau. A 50 keV, on observe deux phénomènes : l'atténuation des photons avant le réseau et la contribution des photo-électrons sur l'énergie déposée dans les cellules. Pour 95% de porosité, lorsque le réseau est le plus grand, moins de photo-électrons peuvent atteindre les cellules et ainsi compenser l'atténuation du faisceau (taille du voxel = 22 μm , cellule = 8 μm , parcours du photo-électron $\sim 6\mu m$).

Dans le cas d'une tumeur cérébrale, après injection d'iode par voie intraveineuse (cas des futurs essais cliniques), la distribution de l'élément lourd sera dépendante de l'architecture du réseau vasculaire. Il n'est pas possible avec ce type de stratégie d'obtenir une distribution complètement homogène à l'échelle cellulaire. On ne peut donc pas considérer que chaque cellule aura à proximité une concentration d'iode permettant de libérer l'énergie escomptée dans la cellule et de la détruire. L'homogénéité en dose recherchée sera moins dépendante de la distribution en iode si les parcours des photoélectrons sont importants et que ceux-ci peuvent ainsi contribuer à la dose délivrée à plusieurs cellules. C'est pourquoi, si l'on extrapole les résultats précédents aux conditions *in vivo* (porosité du tissu cérébral : 20%), il est préférable d'utiliser un faisceau de 80 keV plutôt que 50 keV. En effet, lorsque l'on considère de l'iode uniquement à distance des cellules cibles (cf cas figure 6.16 où l'iode est présent dans le tube mais pas dans le réseau cellulaire) l'augmentation de dose déposée dans les cellules est plus importante à 80 keV qu'à 50 keV (1.35 et 1.25, respectivement). De plus, quand l'iode est présent à la fois dans le réseau cellulaire et à distance (cf figure 6.15, iode dans le tube et le réseau) les FAEp obtenus sont relativement proches à 50 et 80 keV (1.5 et 1.4, respectivement).

6.4.2 FAE en fonction de la concentration en iode, application au modèle *in vitro*.

Nous avons comparé les résultats de simulations aux résultats *in vitro* de cellules irradiées en présence d'iode, pour des cellules en suspension et un modèle 3D de cellules compactes.

6.4.2.1 Modèles expérimentaux

Dans un premier temps, nous détaillons les protocoles expérimentaux et les caractéristiques des modèles *in vitro* utilisés. Puis nous présentons nos résultats *in vitro*.

Sphéroïdes et caractéristiques du modèle utilisé

Protocole de fabrication Les cellules de gliome de rat F98 ont besoin d'adhérer à un substrat pour se développer. C'est cette propriété qui est utilisée pour fabriquer des sphéroïdes. Le principe est d'empêcher les cellules d'adhérer au plastique des puits de culture ; elles sont alors obligées d'adhérer entre elles pour pouvoir se développer. Pour empêcher les cellules d'adhérer aux puits et pour obtenir une forme sphérique, on dépose 50 μL d'agarose au fond de chaque puits qui forme un culot concave. Les cellules vont dans un premier temps s'agglomérer au fond du puits, puis adhérer entre elles et enfin proliférer sous forme de sphères compactes. Lorsque le sphéroïde atteint une certaine taille, les cellules du coeur du sphéroïde commencent à mourir faute d'accès aux nutriments et à l'oxygène, c'est la formation d'une nécrose.

Le modèle étudié est obtenu en déposant 3×10^4 cellules par puits à J0 et en les faisant proliférer pendant 7 jours. Les sphéroïdes sont traités 7 jours après ensemencement. Pour qu'il y ait suffisamment de nutriment dans le milieu durant les 7 jours de croissance, le milieu est changé au bout de 5 jours (aspiration du milieu usagé avec une micro-pipette, distribution du milieu de culture propre avec une multipipette).

Détails du protocole de fabrication des sphéroïdes :

- Matériel :
 - Plaques 96 puits (cf figure 6.17-a),
 - Cellules de gliome de rat F98,
 - Milieu de culture (DMEM, 10% sérum de veau foetal, 1% de pénicilline).
- Étapes :
 - Préparer la solution d'agarose : 1.5% d'agarose dans du PBS (Phosphate buffered saline, un tampon isotonique non-toxique), sans Mg^{2+} et Ca^{2+} (soit 1.5g dans 100mL) et mettre la solution dans l'autoclave (programme "3", déchet liquide) ou au poupinel (stérilisateur).
 - Remplir les puits avec 50 μL d'agarose (utiliser la multi-pipette) et laisser refroidir
 - Préparer les cellules et mettre 3×10^4 cellules par puits.

Détails de la préparation des cellules :

- Trypsinisation : La trypsine permet de décoller les cellules de la flasque de culture mais aussi entre elles, c'est une enzyme digestive du suc pancréatique qui a pour but de digérer les protéines. La trypsine est donc inhibée en présence de sérum de veau foetal ou "SVF"(protéines). Il faut, pour trypsiniser les cellules, enlever le milieu de culture de la flasque contenant du SVF avec une pipette, rincer avec du PBS puis l'enlever, mettre 1 mL (pour une flasque de 25 cm²) de trypsine et laisser 5 min dans l'incubateur, à 37°C. On arrête l'action de la trypsine en ajoutant 5 mL de milieu complet (contenant du SVF).
- Changement de milieu : Une fois les cellules décollées, le milieu contenant les cellules en suspension dans la flasque est récupéré à l'aide d'une pipette et transféré dans un tube allant à la centrifugeuse. Une fois centrifugé, les cellules forment un culot au fond du tube, on peut alors changer le milieu et mettre du milieu complet propre (sans trypsine). Enfin, à l'aide d'une pipette, on remet les cellules en suspension.
- Comptage des cellules : On calcule la concentration du milieu en cellules à l'aide "cellule de Neubauer ou Malassez" (cf figure 6.17-b, c). Le nombre de cellules dans un carré de la cellule de Neubauer correspond au nombre de cellules dans 0.1 μL .
- Dilution du milieu pour que les 200 μL injectés par puits correspondent au 3×10^4 cellules voulues. Par exemple, si la concentration de la solution mère est de 170×10^4 cellules/mL, et que l'on veut 3×10^4 cellules dans 200 μL soit une concentration de 15×10^4 cellules/mL. Le nombre de dilution n est : $n = 170 / 15 = 11.33$. En pratique, une dilution par 11 sera faite et le volume injecté par puits sera : $V = 3.10^4 \times \frac{11}{170.10^4} = 194 \mu L$.
- La plaque 96 puits est ensuite mise à 37°C dans l'incubateur pendant 7 jours. Au bout de 5 jours, le milieu est changé.

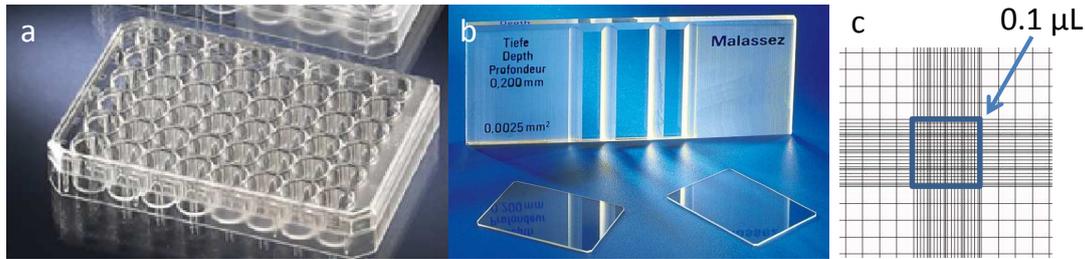


Figure 6.17 – Illustrations (a) d'une plaque 96 puits dans lesquels ont fait croître les sphéroïdes (1 sphéroïde par puit), (b) une cellule de Malassez pour calculer la concentration en cellules d'une solution et (c) les repères de la cellule de Malassez que l'on visualise au microscope pour compter les cellules où un carré correspond à $0.1\mu L$.

Morphologie du sphéroïde Des colorations histologiques Hématoxyline et Éosine (ou H & E) de coupes de sphéroïdes obtenues au microtome (épaisseur de 12 ou 15 μm) ont permis de caractériser notre modèle en taille et composition (cf figure 6.18). Cette coloration est une coloration histologique topographique, associant une coloration nucléaire par l'hématoxyline de Harris et une coloration des cytoplasmes et du collagène par l'éosine. L'éosine colore les cytoplasmes en rose et les fibres dans une gamme de roses plus ou moins vifs selon l'acidophilie des différents éléments. Les noyaux apparaissent donc bleus violets et les cytoplasmes en rose. Cette coloration permet aussi l'identification de lésions ou encore de cellules en division.

Le détail du protocole de coloration est le suivant :

- Congeler un sphéroïde
(faire tomber le sphéroïde dans un épendhorf d'isopentane à -80°)
- Couper au microtome (épaisseur de coupe $\sim 12-15\ \mu m$)
- Fixer les coupes dans un mélange méthanol/acétone (50%/50%) pendant 4 min
- Rincer à l'eau courante pendant 5 min
- La coloration se fait par une succession de bains :
 - Hématoxyline (4 min)
 - Rinçage à l'eau courante
 - HCl (quelques secondes jusqu'à ce que les coupes deviennent un peu plus rose)
 - Rinçage à l'eau courante
 - Eau ammoniacuée
(quelques secondes jusqu'à ce que les coupes retrouvent leur couleur violette)
 - Rinçage à l'eau courante
 - Erythrosine
 - Passage dans trois bains d'alcool
 - Passage dans trois bains de toluène
- Montage entre lame et lamelle grâce à un milieu de montage de type Petex .

L'étude a été reproduite trois fois (trois fois au moins trois analyses de sphéroïdes), les mesures de diamètres des sphéroïdes et des nécroses sont répertoriées dans les tableaux 6.6 et 6.8. Les incertitudes ne tiennent pas compte des déformations possibles liées à la coupe.

Pour obtenir ces mesures de diamètre, des images des coupes histologiques ainsi que d'un papier millimétré au grossissement utilisé (X2 ou X10) sont prises avec le microscope (Olympus BX11). Les images sont ensuite analysées avec le logiciel Image J. On calcule le facteur permettant de passer de la taille en pixels à la taille en μm grâce à l'image du papier millimétré (facteur obtenu pour le grossissement X2 : 1.7 microns/pixel). A cause des possibles déformations lors de la coupe et de la morphologie des sphéroïdes pas

exactement sphériques, le diamètre déterminé pour un sphéroïde est la moyenne entre les petit et grand diamètres de la coupe (diamètres orthogonaux). D'après Ko *et al.* [Ko et al., 2001], les déformations dues à la coupe varient entre 6 et 14% de la taille totale du tissu.

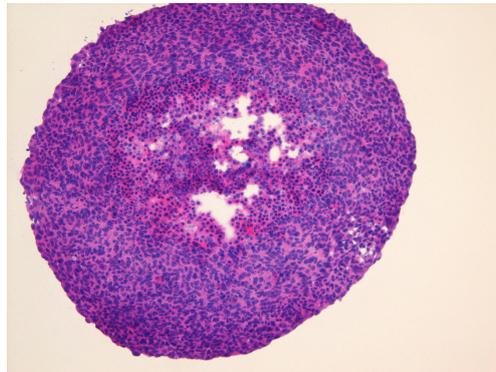


Figure 6.18 – Coupe histologique d'un sphéroïde, marquage H&E.

Étude 1		Étude 2		Étude 3		Moyenne	
Moyenne (μm)	Écart type (μm)	Moyenne (μm)	Écart type (μm)	Moyenne (μm)	Écart type (μm)	Moyenne (μm)	Écart type (μm)
710	180	722	153	721	142	718	162

Tableau 6.6 – Diamètres des sphéroïdes après 7 jours de croissance et 3×10^4 cellules F98 ensemencées pour trois études indépendantes.

Diamètre de la zone nécrotique (μm)	Écart type (μm)	Épaisseur de la zone de prolifération (μm)	Écart type (μm)
322	54	198	58

Tableau 6.8 – Estimation du diamètre de la zone nécrotique, ainsi que l'épaisseur de la zone proliférante.

Évaluation de la porosité du modèle de sphéroïde La porosité du modèle a été estimée à l'aide de la microscopie de fluorescence par absorption à deux photons, ou microscopie bi-photonique. Ce microscope est basé sur un processus non-linéaire d'absorption quasi-simultanée (de l'ordre de la femtoseconde) de deux photons par une molécule. Celle-ci se désexcite ensuite, après une cascade énergétique de niveaux vibrationnels, en émettant un photon de fluorescence d'énergie quasiment double (i.e. de longueur d'onde moitié) de celle des photons excitateurs. Pour évaluer la porosité du modèle, nous avons utilisé de la sulforhodamine B (SRB) qui est un chromophore qui est non-transmembranaire pour des cellules F98. Nous avons obtenu des images de qualité correcte (cf figure 6.19) jusqu'à environ $100 \mu m$ de profondeur.

La porosité a été mesurée en segmentant les images obtenues avec le logiciel Avizo. Nous avons trouvé une porosité moyenne de **20%**. Ce résultat correspond aux porosités proposées dans la littérature pour des tissus biologiques [Vargová et al., 2003].

L'image brute étant relativement bruitée, on ne peut pas distinguer, dans l'histogramme des niveaux de gris, deux pics distincts qui correspondraient l'un aux cellules et l'autre à l'espace interstitiel. La segmentation a donc été réalisée avec un seuillage manuel.

Détails du protocole de segmentation :

Avizo possède 2 avantages certains. Premièrement la segmentation se fait par croissance de régions 2D ou 3D (localisation manuelle d'un pixel, et le seuillage choisi se propage de proche en proche). De plus, il est possible d'effectuer différents seuillages, et surtout d'associer un compartiment pour chaque seuillage (ce qui permet de séparer le compartiment extra et intracellulaire). On indique une valeur seuil pour l'espace interstitiel (délimitation en rouge, cf figure 6.19) et les cellules (délimitation en vert). Différents couples de seuils sont comparés, l'optimum étant choisi subjectivement mais de telle manière que les cellules soient partiellement connectées.

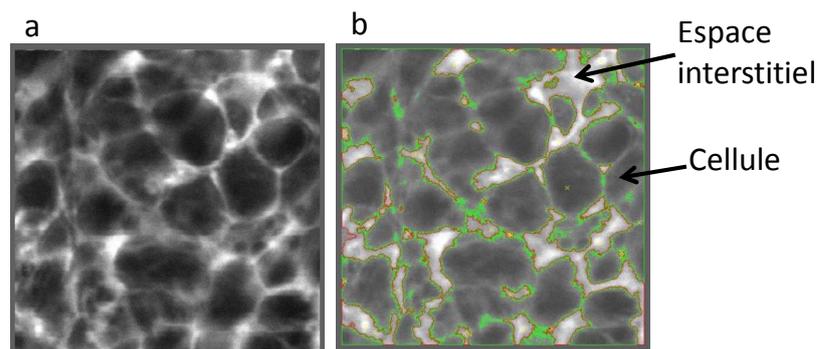


Figure 6.19 – Exemple d'image du sphéroïde obtenue (a) au bi-photon pour 1mg/mL de Sulphorhodamine B (largeur de l'image= $66.45\mu\text{m}$) et (b) l'image segmentée utilisée pour calculer la porosité (avec Avizo).

Evaluation du temps de diffusion de l'iode dans le sphéroïde (validation expérimentale et simulations) Nous avons cherché à estimer le temps nécessaire, pour que la diffusion de l'iode dans le sphéroïde soit complète, avant d'irradier le sphéroïde en présence d'iode. Deux approches ont été utilisées. La première est expérimentale et consiste à vérifier si la survie des cellules irradiées avec un générateur à rayons-X (200 kVp) est dépendante du temps d'incubation du sphéroïde dans le milieu iodé avant d'être irradié. Des sphéroïdes ont été irradiés à différentes doses (0, 3 et 6 Gy) dans des boîtes de Pétri contenant du milieu et 10 mg/mL d'iode (Ioméron) en attendant différents laps de temps entre le moment où les sphéroïdes sont mis dans le milieu iodé et l'irradiation (3, 5, 10, 30 et 60 minutes). Des tests clonogéniques ont été ensuite effectués pour évaluer la survie des cellules. Les résultats obtenus pour des temps allant de 3 à 60 min et 10 mg/mL d'Ioméron dans le milieu sont représentés figure 6.20. Aucune différence significative n'a été trouvée entre les différents temps.

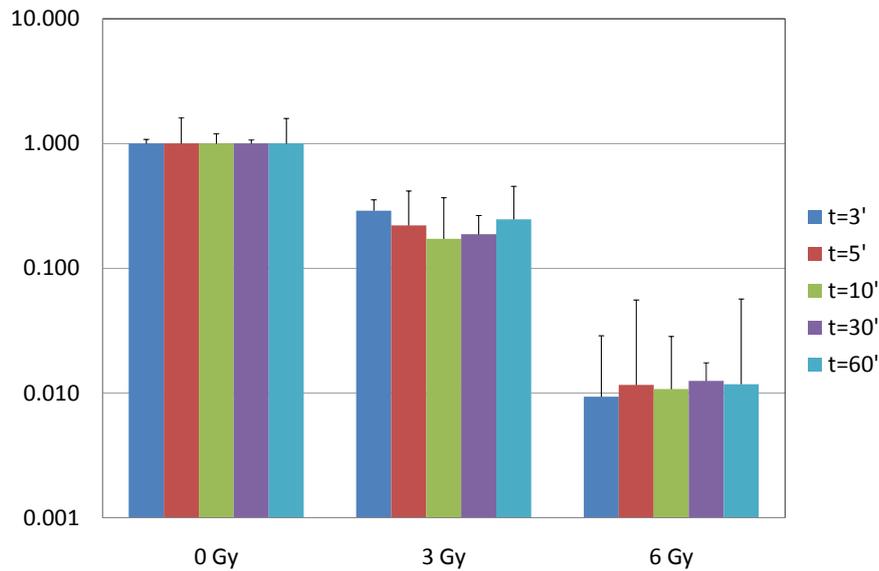


Figure 6.20 – Résultats des tests clonogéniques (survies normalisées) obtenus avec un faisceau de 200 kVp pour différentes doses et temps de diffusion de l'iode dans le sphéroïde (temps avant irradiation). Le débit de dose utilisé est de 1 Gy/min.

Nous avons ensuite voulu valider cette observation de manière plus théorique avec des simulations basées sur un modèle mathématique de la diffusion dans un milieu poreux.

Le transport de l'agent de contraste en milieux poreux est régi par le mécanisme de diffusion moléculaire. On a, pour un milieu homogène et isotrope :

$$\frac{dC}{dt} = -D^* \cdot \Delta C(r, t)$$

avec C la concentration interstitielle de l'agent, D^* le coefficient de diffusion effectif dans le tissu. D^* est par définition inférieur au coefficient de diffusion libre D_o . Ce dernier peut s'exprimer suivant l'équation de Stokes-Einstein :

$$D_o = \frac{kT}{6\pi\eta a}$$

où $k = 1.38 \times 10^{-23}$ J/K, la constante de Boltzmann, T, la température absolue (conditions physiologique : $37^\circ C$) en Kelvin, η , la viscosité dynamique du solvant en $kg.m^{-1}.s^{-1}$ et a , le rayon hydrodynamique de la molécule diffusante (en nm). La viscosité d'une solution aqueuse contenant 10 mg/mL d'Ioméron à température ambiante a été estimée à l'aide d'un viscosimètre rotationnel de type couette et vaut $\eta = 0.86 mPa.s$. Le rayon hydrodynamique de la molécule d'Ioméprol est d'environ 0.35 nm.

On a donc,

$$D_o = 7.54.10^{-10} m^2 .s^{-1}$$

Différents modèles pour calculer le coefficient de diffusion effectif (D^*)

Lorsque le milieu n'est plus libre, ce qui est le cas dans le sphéroïde, les molécules ont un mouvement restreint se traduisant par un coefficient de diffusion plus faible, appelé coefficient de diffusion apparent (ADC en anglais) ou coefficient de diffusion effectif (noté D^*). Plusieurs modèles existent pour prédire les valeurs de D^* selon l'architecture du milieu.

Par exemple, le modèle proposé par Nicholson *et al.* [Nicholson et al., 2000] dépend uniquement de la tortuosité du milieu τ (qui traduit un effet de restriction géométrique de la diffusion des molécules de par la présence des cellules) :

$$D^*/D_o = 1/\tau^2$$

Celui de Dong *et al.* [Dong et al., 1994] dépend de la porosité ϵ ainsi que de la tortuosité τ :

$$D^*/D_o = \epsilon/\tau$$

Un autre modèle proposé par Goodman *et al.* [Goodman et al., 2008] portant sur l'étude de la diffusion de nanoparticules d'or dans des sphéroïdes propose un modèle dépendant de nombreux paramètres qui sont : le facteur de forme F qui est déterminé à partir des données expérimentales (permet d'ajuster le modèle avec les données expérimentales), le facteur de réduction stérique et hydrodynamique du coefficient de diffusion dans les pores L qui ne dépend que de λ , avec λ le rapport du rayon hydrodynamique a sur le rayon des pores. On a $\lambda = \frac{R_h}{R_p} = \frac{0.35nm}{50nm}$ et $L(\lambda) = (1 - \lambda^2) \times (1 - 2.1044\lambda + 2.089\lambda^3 - 0.948\lambda^5)$. Dans ce modèle, la tortuosité est définie en fonction de la porosité suivant l'équation suivante : $\frac{1}{\tau(\epsilon)} = 1 - \frac{2}{3}(1 + \epsilon)(1 - \epsilon)^{2/3}$. Le modèle est défini comme suit :

$$D^*/D_o = L(\lambda)/(F \times \tau(\epsilon))$$

Le modèle que nous avons choisi est un modèle ne dépendant que de la porosité (seul paramètre connu à ce jour de notre modèle de sphéroïde). Proposé par El-Kareh *et al.* [El-Kareh et al., 1993], il s'exprime comme suit :

$$D^*/D_o = \frac{2\epsilon}{3 - \epsilon},$$

avec ϵ la porosité et D_o le coefficient de diffusion libre de l'agent.

Nous avons comparé les valeurs du coefficient de diffusion ainsi calculées pour les 4 modèles décrits dans la littérature [Dong et al., 1994, Goodman et al., 2008, Nicholson et al., 2000, El-Kareh et al., 1993] pour les milieux poreux, les résultats sont indiqués tableau 6.9. Les valeurs choisies pour la porosité et la tortuosité sont 0.2 et 1.6 respectivement. La porosité choisie correspond à celle du sphéroïde mais aussi à celle du cortex cérébral [Nicholson and Syková, 1998] ou encore celle de la majorité du cerveau du rat [Lehmenkühler et al., 1993]. La tortuosité correspond à celle proposée, par Nicholson, comme moyenne pour le cerveau mammifère [Nicholson and Syková, 1998]. Nous ne connaissons pas la tortuosité pour notre modèle de sphéroïde mais celle-ci peut être différente du tissu cérébrale mammifère. C'est d'ailleurs pourquoi, nous avons choisi d'utiliser un modèle qui ne dépend que de la porosité.

Modèle	(D^*/D_o)
$D^*/D_o = \epsilon/\tau$ d'après Dong <i>et al.</i> [Dong et al., 1994]	0.125 pour ($\epsilon = 0.2, \tau = 1.6$)
$D^*/D_o = \frac{2\epsilon}{3-\epsilon}$ d'après El-Kareh <i>et al.</i> [El-Kareh et al., 1993]	0.143 pour $\epsilon = 0.2$
$D^*/D_o = 1/\tau^2$ d'après Nicholson et al [Nicholson et al., 2000]	0.391 pour $\tau = 1.6$
$D^*/D_o = L(\lambda)/(F \times \tau)$ d'après Goodman <i>et al.</i> [Goodman et al., 2008]	0.081 pour ($L = 0.9, \tau = 1.6$)
	0.040 pour ($L = 0.9, \tau = \tau(\epsilon)$)

Tableau 6.9 – Rapports D^*/D_o pour 4 modèles de diffusion dans un milieu poreux. Avec τ , la tortuosité, F le facteur de forme, L le facteur de réduction stérique et hydrodynamique du coefficient de diffusion dans les pores et λ le rapport du rayon hydrodynamique sur le rayon des pores. Pour ces calculs nous avons choisi les valeurs de porosité et tortuosité d'après la littérature [Nicholson and Syková, 1998] (0.2 et 1.6 pour la porosité et la tortuosité).

Le modèle que nous avons choisi (Kareh *et al.*) donne un résultat proche de celui déterminé par le modèle de Dong *et al.* et proche de la valeur moyenne des différents modèles. Le modèle de Nicholson *et al.* donne un coefficient de diffusion restreint relativement élevé et inversement le modèle de Goodman *et al.* donne une valeur très basse.

Les simulations ont été réalisées avec un code de calcul numérique d'écoulement et de transport basé sur la résolution numérique d'équations différentielles selon la méthode des volumes finis (ANSYS Inc.). Différentes variables telles que le temps de diffusion des molécules dans un modèle de sphéroïde ou la cinétique de la concentration en iode au centre de celui-ci ont été estimées.

La géométrie La géométrie est constituée d'une sphère de diamètre $800 \mu m$. Deux géométries sont utilisées : une géométrie homogène correspondant à un sphéroïde sans nécrose et une géométrie hétérogène pour un sphéroïde ayant une nécrose. Pour la nécrose deux coefficients de diffusion différents ont été utilisés correspondant soit à une porosité de 100% (diffusion libre), soit à une porosité de 40%, valeur trouvée dans la littérature pour un modèle de sphéroïde [Goodman et al., 2008]. Dans le cas d'un sphéroïde présentant un cœur nécrotique, ce cœur est décrit par une sphère centrée de diamètre $300 \mu m$, basé sur les estimations histologiques. Un maillage non structuré de la géométrie à base de tétraèdres est réalisé sous Ansys ICEM-CFD®. La figure 6.21 montre une vue diamétrale du maillage tétraédrique pour le modèle homogène et hétérogène de sphéroïde.

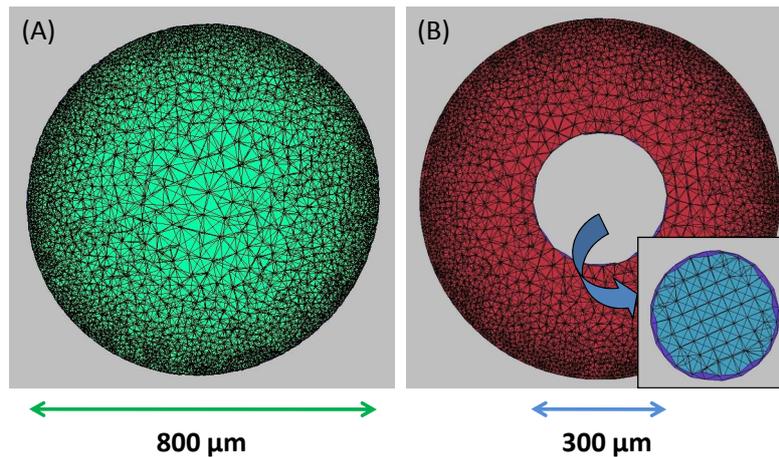


Figure 6.21 – Vue diamétrale du maillage tétraédrique de la géométrie pour un sphéroïde homogène (A) et un sphéroïde hétérogène (B). Le sphéroïde hétérogène est constitué de deux domaines maillés séparément : en rouge, le tissu normal associé par la suite à une porosité nominale de 20 % ; en bleu, le cœur nécrotique, associé à une porosité de 40 ou 100% selon la simulation. Pour (A) et (B), les maillages sont à base de tétraèdres, et sont réalisées à partir de la méthode d’Octree ou de Delaunay selon les cas.

La taille caractéristique maximale des tétraèdres dans le volume du sphéroïde est limitée à $50 \mu m$ et la taille caractéristique maximale des tétraèdres au niveau de la surface extérieure, où est imposée la concentration d’iode est limitée à $10 \mu m$. Le tableau 6.10 indique le nombre de tétraèdres utilisés suivant le modèle.

	Nombre de tétraèdres	Nombre de nœuds
Sphéroïde homogène	793 937	138 178
Sphéroïde hétérogène	789 561 + 1784	137 593 + 340

Tableau 6.10 – Nombre de tétraèdres et nœuds utilisés dans les deux modèles de sphéroïdes (homogène et hétérogène).

Les coefficients de diffusion Le tableau 6.11 récapitule les valeurs des coefficients de diffusion effectifs utilisés pour les simulations suivant les modèles.

modèle	zone	porosité	$D^* (\times 10^{-10} . m^2 . s^{-1})$
homogène	périphérie	20%	1.08
	nécrose	20%	1.08
hétérogène	périphérie	20%	1.08
	nécrose	40%	2.32
	nécrose	100%	7.54

Tableau 6.11 – Récapitulatif des coefficients de diffusion effectifs utilisés pour les simulations.

Les temps de diffusion obtenus Les temps de diffusion nécessaires, pour que 95 ou 90% de la concentration C_o présente en périphérie du sphéroïde atteigne le centre de celui-ci ou la région nécrotique, sont indiqués tableau 6.12.

Type de simulation	Seuil 95 %		Seuil 90 %	
	Centre	Nécrose	Centre	Nécrose
Sphéroïde homogène 20%	9' 15''	8' 35''	7' 32''	6' 55''
Sphéroïde hétérogène (20% et 40%)	11' 15''	10' 35''	9' 5''	8' 20''
Sphéroïde hétérogène (20% et 100%)	17' 38''	16' 40''	14'	13' 5''

Tableau 6.12 – Temps nécessaires pour atteindre une concentration de 90 ou 95 % de C_o (10 mg/mL=12.9 mM=12.9 mol.m⁻³) au centre du sphéroïde, ou à $r = 155 \mu m$, proche de l'interface région nécrotique, région normale pour le sphéroïde hétérogène.

Précision : +/- 5 secondes.

Pour le sphéroïde homogène, il faut attendre **9min 15s** pour qu'il y ait 95% de la concentration périphérique C_o initiale au centre de celui-ci. Ce temps est supérieur lorsqu'on tient compte de la nécrose. Ceci s'explique par le temps nécessaire, une fois l'iode ayant atteint la zone nécrotique, à remplir le volume interstitiel de la nécrose qui est plus important. Ce temps est de **11min 15s et 17min 38s** pour une porosité de 40% et 100%, respectivement.

Ces résultats supposent donc qu'il faut laisser le sphéroïde dans l'iode pendant 10-12 minutes avant de l'irradier si l'on considère une porosité de la nécrose comprise entre 20% et 40%.

Le détail des résultats obtenus est présenté figures 6.22, 6.23 pour les courbes de concentrations transitoires au centre et en périphérie de la nécrose et figure 6.24 pour les profils de concentrations aux temps : 100, 300 et 500s. Sur les profils et pour les modèles ayant une nécrose, on voit apparaître une discontinuité qui est due à la conservation du vecteur densité de courant moléculaire (flux moléculaire en mol/m²/s). Mathématiquement, c'est l'expression : $-D^* \cdot \overrightarrow{grad}C$, avec D^* le coefficient de diffusion et C , la concentration interstitielle, qui doit être constante. C'est pourquoi, la variation du coefficient de diffusion, à l'interface entre la zone périphérique du sphéroïde et la nécrose, entraîne une discontinuité dans le profil de concentration.

Conclusion sur le modèle de sphéroïde Notre modèle de sphéroïde peut donc être assimilé à un milieu poreux de porosité $\sim 20\%$, de diamètre extérieur $718 \pm 162 \mu m$, de diamètre de la nécrose $322 \pm 54 \mu m$. Et il faut attendre 10-12 min pour permettre la diffusion complète des molécules iodées (concentration de 10 mg/mL) avant l'irradiation.

Tests de clonogenité, courbes de survies et $SER_{10\%}$

Tests de clonogenité En radiobiologie, on considère qu'une cellule est survivante si elle est capable de donner naissance à une colonie d'au moins cinquante cellules. Le test clonogénique consiste à ensemencer N cellules dans une boîte de Pétri contenant du milieu complet et de laisser croître les colonies formées par chaque cellule pendant un temps donné qui dépend de la lignée cellulaire (ou plus exactement du temps de doublement). Le rapport entre le nombre de colonies contenant plus de 50 cellules sur le nombre de cellules initiales N indique la survie cellulaire.

En pratique, la survie de cellules n'ayant pas subi de traitement est inférieure à 1. C'est pourquoi, les courbes de survies cellulaires sont normalisées par rapport à la survie sans traitement pour pouvoir évaluer l'effet de ce dernier. On appelle la survie des cellules non traitées la survie spécifique ou Plating Efficiency (PE). La survie cellulaire est donc donnée par l'équation suivante :

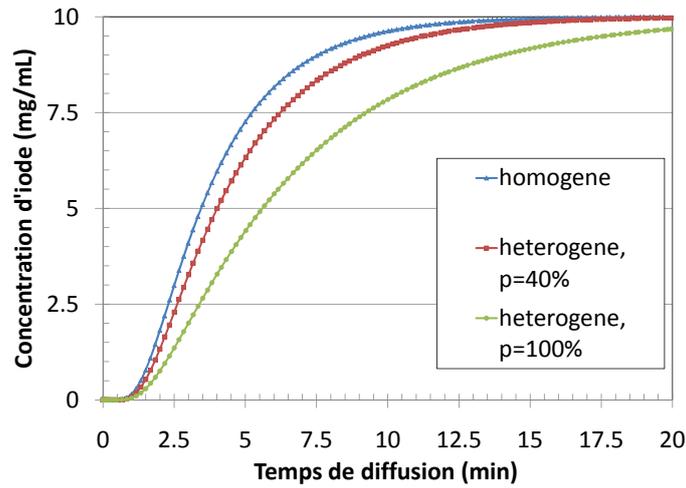


Figure 6.22 – Courbes de concentrations transitoires au centre du sphéroïde pour les trois modèles de sphéroïdes (avec ou sans nécrose et ayant une nécrose de 40 ou 100% de porosité), pour une concentration initiale de 10 mg/mL d'iode en périphérie du sphéroïde.

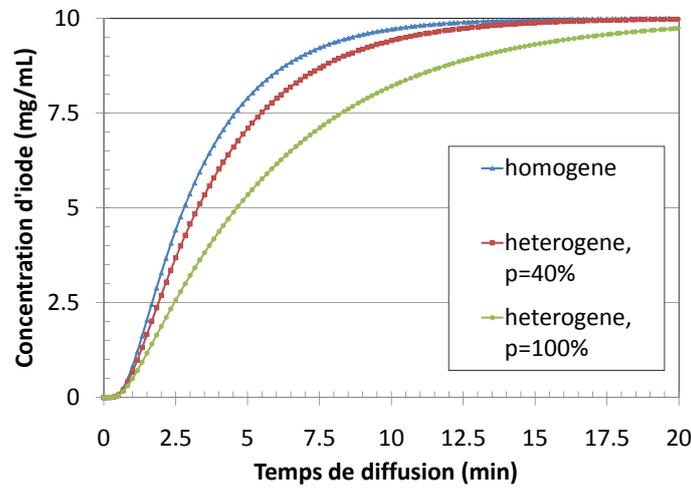


Figure 6.23 – Courbes de concentrations transitoires en périphérie de la nécrose du sphéroïde pour les trois modèles de sphéroïdes (avec ou sans nécrose et ayant une nécrose de 40 ou 100% de porosité), pour une concentration périphérique de 10 mg/mL d'iode.

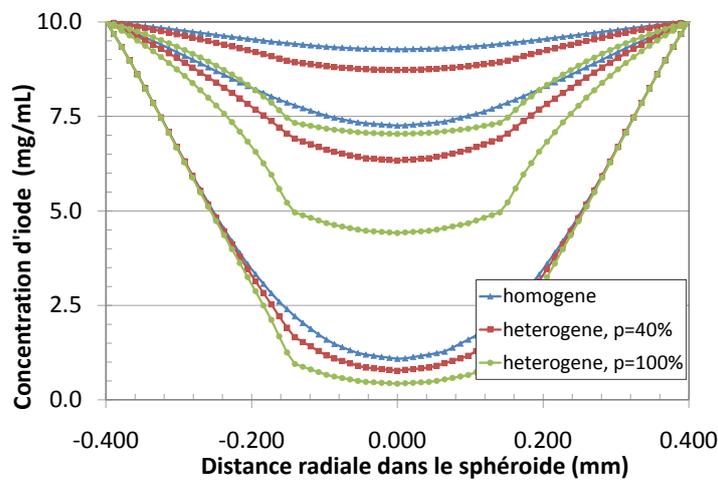


Figure 6.24 – Profils radiaux de concentration en iode dans les trois modèles de sphéroïdes simulés (avec ou sans nécrose et ayant une nécrose de 40 ou 100% de porosité), aux temps : 100, 300 et 500s (courbes du bas vers le haut). Le sphéroïde a un diamètre de 800 μm , la nécrose un diamètre de 300 μm .

$$Survie(dose) = \frac{\text{Nombre de colonies}}{PE \times \text{Nombre de cellules}}$$

Détail du protocole pour les sphéroïdes (illustration figure 6.25)

Après avoir irradié les sphéroïdes dans les conditions voulues, il faut, pour les ense-
mencer :

- Enlever le milieu et rincer au moins deux fois les sphéroïdes avec du PBS pour pouvoir les trypsiner (enlever tout le sérum de veau foetal)
- Faire incuber à 37° les sphéroïdes dans de la trypsine (typiquement 400 μL) pendant 5 min
- Agiter mécaniquement les sphéroïdes dans la trypsine avec une pipette pour aider l'action de la trypsine sur les protéines liant les cellules
- Ajouter du milieu complet pour arrêter l'action de la trypsine
- Centrifuger et suspendre de nouveau dans du milieu complet propre (sans trypsine)
- Calibrer la solution en concentration en utilisant une cellule de Neubauer ou Malassez (cf paragraphe sur la synthèse des sphéroïdes)
- Ensemencer le nombre de cellules voulue N dans une boîte de Pétri contenant 8 mL de milieu complet
- Mettre à l'incubateur pendant 10 jours
- Fixation et Coloration des boîtes au bout de 10 jours avec du Cristal Violet (75% d'alcool à 95°, 25% cristal violet (prolabo)) :
 - Rincer les boîtes de Pétri avec du PBS
 - Mettre du cristal violet dans chaque boîte (laisser environ 30s)
 - Rincer à l'eau et laisser sécher.
- Comptage des colonies de plus de 50 cellules.

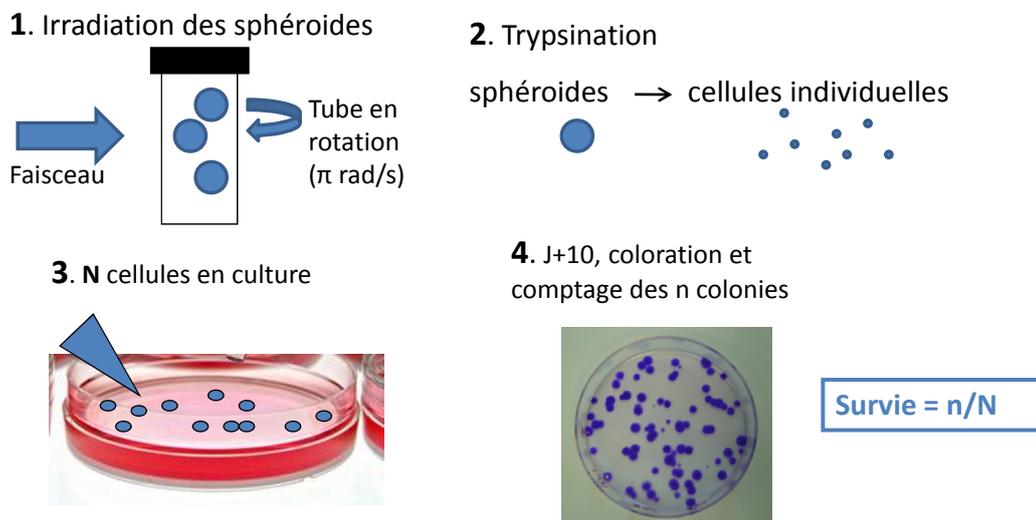


Figure 6.25 – Illustration du test clonogénique pour des sphéroïdes. Les différentes étapes sont : l'irradiation, la trypsinisation pour dissocier les cellules, le comptage, l'ensemencement, l'incubation des cellules pendant 10 jours, la coloration au cristal violet et le comptage des colonies. Le rapport entre le nombre de colonies et le nombre de cellules ensemencées correspond à la survie non-normalisée.

Remarque :

Pour le modèle 1D de cellules en suspension, les cellules sont mises en suspension avant l'irradiation. Il n'est donc pas nécessaire de trypsiner les cellules avant l'ensemencement

(après l'irradiation), par contre, il est préférable de changer le milieu (centrifugation des cellules puis remise en suspension dans du milieu propre). La suite est identique aux sphéroïdes : calibrage de la solution, ensemencement, incubation, fixation et coloration, comptage.

La courbe de survie cellulaire Une courbe de survie cellulaire est la représentation graphique du taux de survie en fonction de la dose X pour une espèce cellulaire donnée et des conditions expérimentales déterminées (voir par exemple figure 6.26).

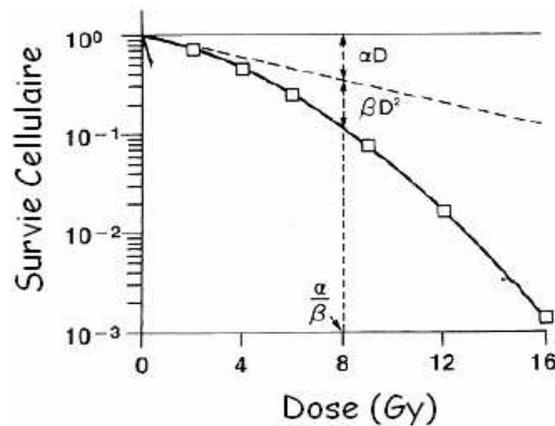


Figure 6.26 – Courbe de survie obtenue avec le modèle linéaire quadratique. Le rapport des coefficients des deux composantes , α/β , représente la dose pour laquelle les effets linéaires et les effets quadratiques sont égaux.

La forme de la courbe de survie dépend du spécimen biologique irradié, mais surtout du rayonnement utilisé. Comme expliqué dans le chapitre 5, différents modèles ont été développés pour décrire et expliquer les courbes de survie cellulaire. Le modèle le plus connu est le modèle “linéaire quadratique” proposé par Chadwick *et al.* [Chadwick and Leenhouts, 1973] dans les années 70. Ce modèle est décrit par l'équation suivante :

$$S = S_o e^{-\alpha D - \beta D^2}$$

avec α et β des constantes, D la dose, S_o , la survie des cellules non-irradiées et S la survie des cellules irradiées avec une dose D .

L'interprétation la plus courante de ce modèle est d'associer la partie linéaire aux effets directs de l'irradiation et la partie quadratique aux effets indirects, qui proviennent de la combinaisons de lésions de l'ADN.

Calcul du facteur de sensibilisation ou “Sensitization Enhancement Ratio” (SER_{10%}) Le SER est le facteur biologique nous renseignant sur l'augmentation de la sensibilité des cellules obtenue grâce à la présence d'un élément lourd dans le milieu dans notre cas. Le SER_{10%} est défini comme le rapport des doses nécessaires pour obtenir 10% de taux de survie en présence ou non d'éléments lourds.

$$SER_{10\%} = \frac{D_{control}}{D_{element\ lourd}},$$

où $D_{control}$ est la dose nécessaire pour obtenir 10% de survie lorsque les cellules sont irradiées dans un milieu sans élément lourd et $D_{element\ lourd}$, celle nécessaire en présence d'éléments lourds (prescrite dans l'eau, sans prendre en compte la présence d'éléments lourds).

Déterminer le SER pour une survie de 10% est un choix arbitraire, historique et largement utilisé dans la littérature. Corde *et al.* ont publié en 2004 la dépendance du SER en fonction du choix du pourcentage de survie de référence pour deux types d'irradiation de cellules SQ20B (cf figure 6.27). Ils ont montré que pour une irradiation de cellules en suspension en présence d'un agent de contraste iodé (Iomeron), le SER est indépendant du choix de la survie de référence, par contre, pour les cellules ayant été exposées au préalable de l'irradiation à du 5-iodo-20-deoxyuridine (IUdR), un médicament anti-cancéreux qui se substitue aux bases thymidine de l'ADN, la valeur du SER augmente en fonction du taux de survie choisi pour le calcul. Pour l'IUdR, le $SER_{90\%}$ atteint 9.5. Cela suggère qu'il serait plus intéressant de traiter, en présence d'IUdR, avec un fractionnement temporel utilisant des faibles doses par fraction qui permettrait d'obtenir une meilleure différence entre les cellules exposées à l'IUdR et les cellules non-exposées, les cellules des tissus sains. La constance du SER pour l'irradiation en présence de l'agent de contraste iodé montre que les cellules réagissent comme avec une irradiation de bas-TEL (transfert d'énergie linéique).

Remarque :

- Pour des irradiations à haut TEL, l'irradiation provoque un nombre de lésions qui croît de façon exponentielle avec la dose, la courbe devient linéaire (en échelle logarithmique).
- Le SER est aussi dépendant du débit de dose utilisé.

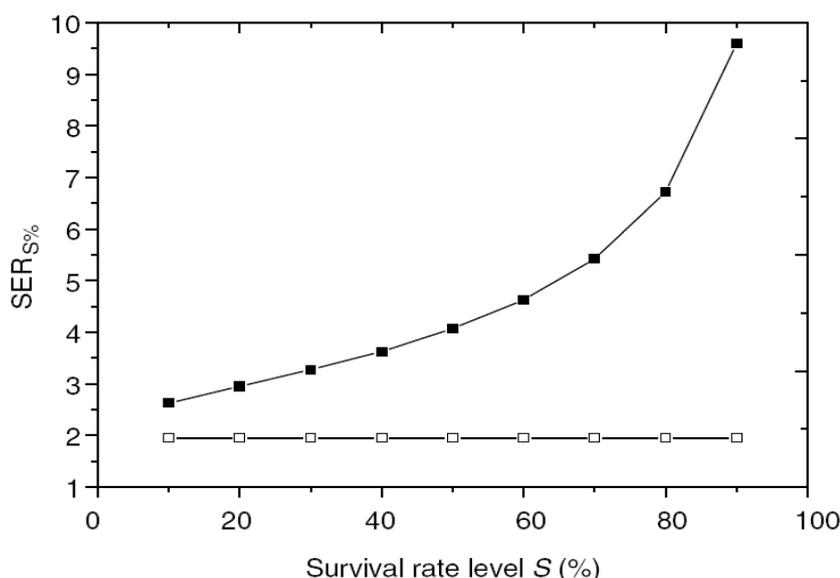
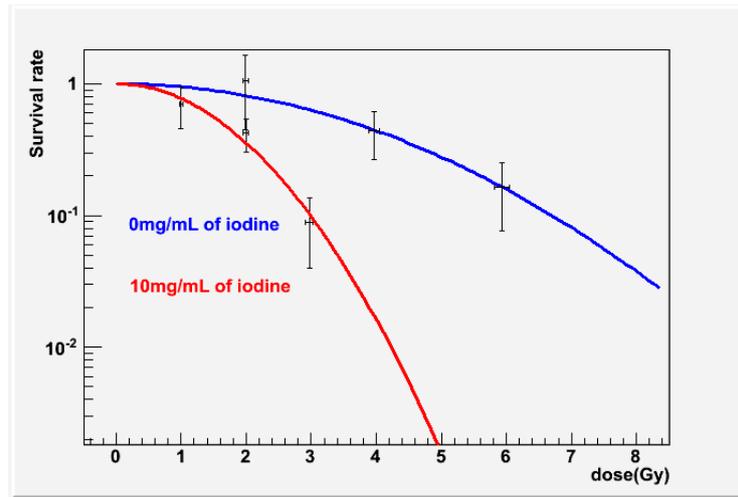


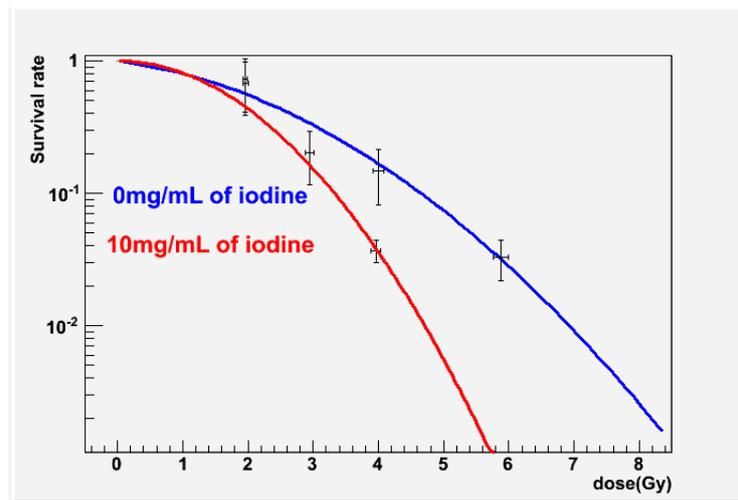
Figure 6.27 – Comparaison de la dépendance du choix du pourcentage de survie pour le calcul du facteur de sensibilisation (SER) pour des cellules irradiées à 50keV après une exposition des cellules pendant 48h à 10 mM d'IUdR avant irradiation (symboles pleins) ou irradiées avec 10 mg/ml d'iode (Ioméron, symboles ouverts), d'après S. Corde [Corde et al., 2004].

Résultats obtenus sur les deux modèles *in vitro* Les courbes obtenues sont présentées figures 6.28 et 6.29 pour des cellules F98, soit en suspension, soit sous forme de sphéroïdes irradiées à 50 ou 80 keV en présence ou non d'iode (10 mg/mL d'Ioméron). Les courbes ont été analysées avec le logiciel Root. Les courbes avec le détail des enveloppes d'incertitude obtenues, pour un écart type, sur le fit sont indiquées sur chaque courbe en annexe.

50 keV :



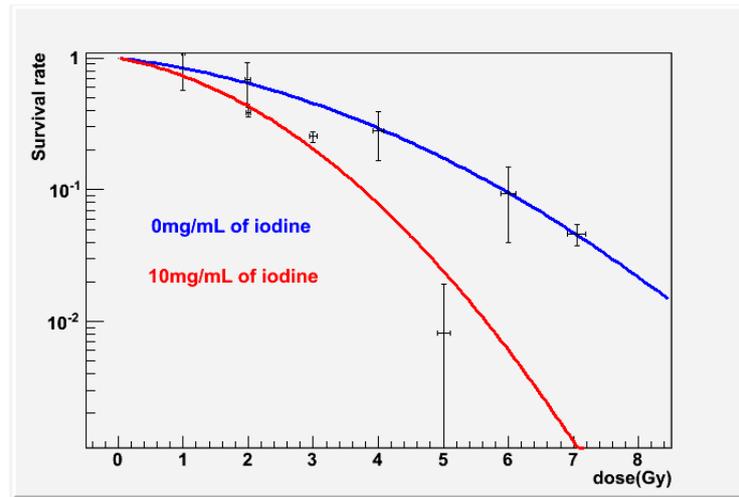
a) Cellules en suspension



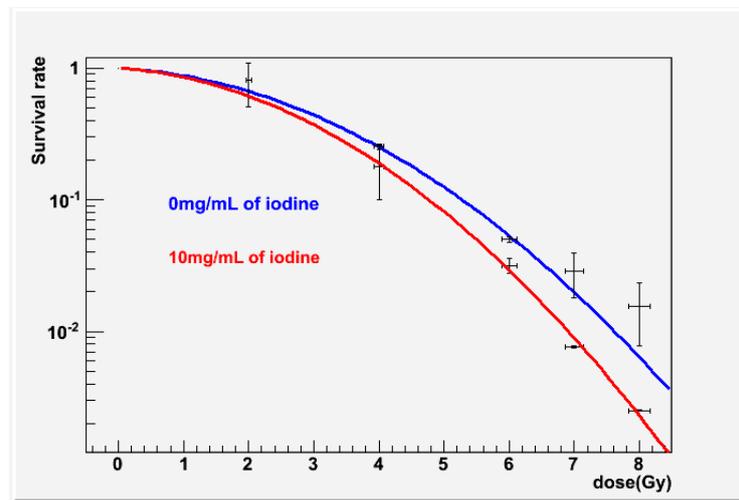
b) Sphéroïdes

Figure 6.28 – Courbes de survie cellulaire obtenues pour des cellules en suspension et sphéroïdes irradiées à 50 keV en présence ou non de 10 mg/mL d'iode (Ioméron).

80 keV :



a) Cellules en suspension



b) Sphéroïdes

Figure 6.29 – Courbes de survie cellulaire obtenues pour des cellules en suspension et sphéroïdes irradiées à 80 keV en présence ou non de 10 mg/mL d'iode (Ioméron).

Les résultats obtenus sont présentés tableau 6.13. Les courbes représentant le SER en fonction du pourcentage de survie choisi comme référence sont présentées figure 6.30. Les SER obtenus sont relativement constants dans la limite des incertitudes de mesure.

Modèle cellulaire	Énergie (keV)	SER _{10%}
suspension	50	2.25
sphéroïde	50	1.4
suspension	80	1.6
sphéroïde	80	1.1

Tableau 6.13 – Résumé des SER_{10%} obtenus pour des cellules F98 irradiées à 50 ou 80 keV et en présence de 10 mg/mL d'iode (Ioméron).

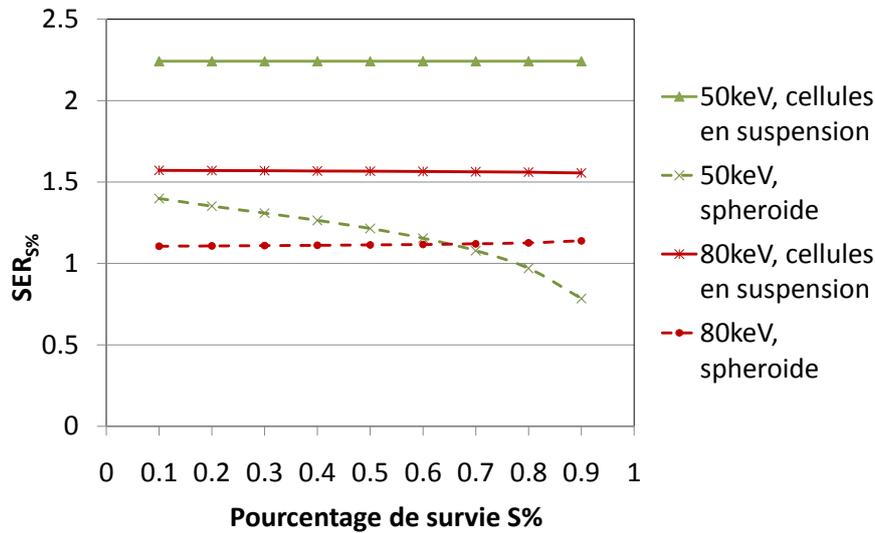


Figure 6.30 – Comparaison de la dépendance du choix du pourcentage de survie pour le calcul du facteur de sensibilisation (SER) pour des cellules F98 en suspension ou sous forme de sphéroïdes irradiées à 50 keV ou 80 keV en présence ou non de 10 mg/mL d'iode (Ioméron).

Conclusion On a pu voir l'augmentation de la sensibilité des cellules en présence d'iode pour les deux modèles. Dans une même condition, l'augmentation obtenue est plus faible pour le modèle de sphéroïde que pour le modèle de cellules en suspension. Ceci peut avoir différentes origines :

- Problème expérimental de diffusion de l'agent de contraste dans le sphéroïde (temps d'incubation)
- Différence de la radiosensibilité des cellules dans la configuration sphéroïde
- Distribution de l'élément lourd (distribution finale, pendant l'irradiation)

La première hypothèse a été écartée grâce aux études préliminaires présentées sur la diffusion de l'iode (cf 6.4.2.1). Si les cellules de sphéroïdes ont une radiosensibilité différente des cellules en suspension, le calcul des $SER_{10\%}$ ne devrait pas être affecté puisque les courbes de survie sont normalisées avec la survie spécifique.

La principale cause est probablement liée à la distribution microscopique de l'iode dans le sphéroïde. Pour les sphéroïdes, on a vu que la porosité est d'environ 20% ce qui veut dire que le milieu contenant 10 mg/mL d'iode ne se retrouve que dans 20% du volume total du sphéroïde. Nous allons donc étudier dans ce chapitre si l'augmentation de dose obtenue pour les sphéroïdes correspond à ce que l'on pourrait estimer en prenant en compte la porosité du milieu.

6.4.2.2 Simulations

Que ce soit pour le modèle de cellules en suspension ou de sphéroïdes, la concentration dans le tube et dans le milieu interstitiel est la même, puisque expérimentalement, on irradie chacun des modèles dans un tube contenant une concentration en élément lourd déterminée.

Pour le modèle de cellules en suspension, on considère que chaque cellule est indépendante et à distance des autres. Les paramètres des simulations correspondant à ce modèle reviennent à simuler le FAEp pour une porosité tendant vers 100% (cf figure 6.31). On utilisera donc, pour ce modèle, la porosité la plus élevée, soit 95% (cellules de 8 μm de côté et voxel de 22 μm de côté). Cette étude permettra notamment d'estimer l'erreur que l'on fait lorsque l'on néglige l'absence d'iode dans la cellule et que l'on considère l'iode homogènement réparti à l'intérieur et à l'extérieur des cellules.

Pour le modèle de sphéroïde, on a vu que la porosité vaut environ 20% (cf figure 6.31). Des cellules cubiques de $12 \mu\text{m}$ et des voxels de $13 \mu\text{m}$ de coté (porosité = 21%) ont été utilisés pour simuler cette configuration.

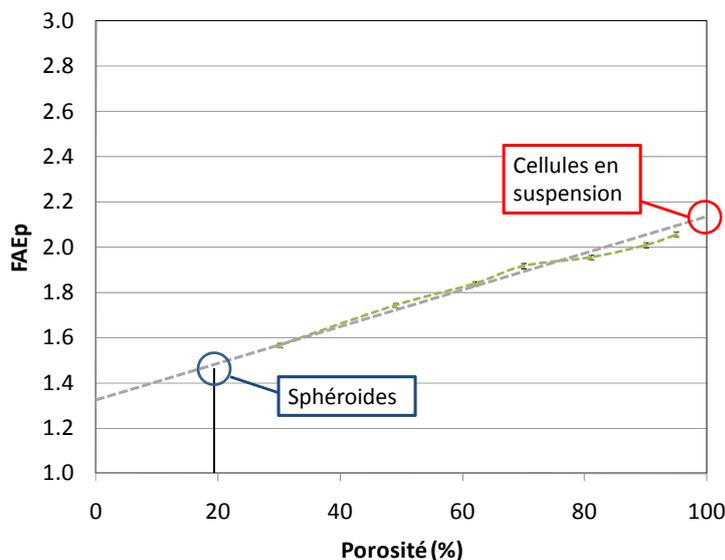


Figure 6.31 – Illustration des paramètres de simulations utilisés pour comparer les simulations aux modèles *in vitro* (cellules en suspensions et sphéroïdes). Courbes obtenues à 50 keV et une concentration de 10 mg/mL d'iode dans le tube et les espaces interstitiels.

Cellules en suspension Les FAEp et FAEh obtenus à 50 et 80 keV pour différentes concentrations en iode dans le milieu sont représentés figure 6.32. Ces FAE ont été calculés pour une porosité de 95% pour pouvoir les comparer avec les expérimentations réalisées *in vitro* sur les cellules en suspension.

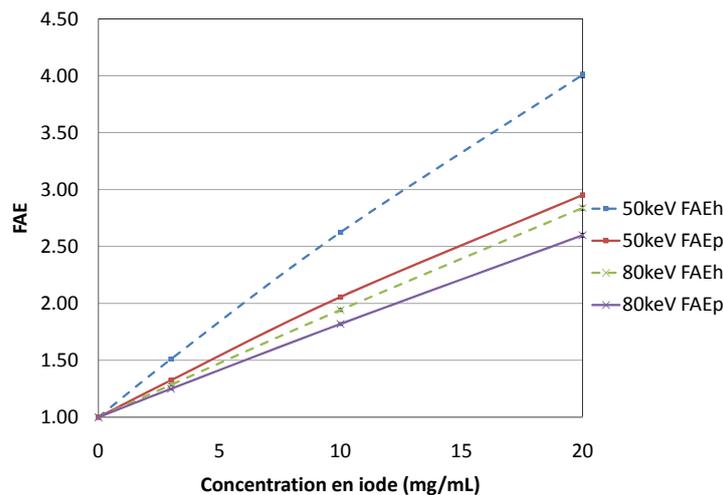


Figure 6.32 – FAE simulés à 50 et 80 keV pour des cellules en suspension (porosité = 95%) en fonction de la concentration en iode dans le milieu. (FAEh : iode réparti uniformément dans les cellules et les espaces interstitiels - FAEp : iode uniquement dans les espaces interstitiels).

Comme nous l'avons déjà observé dans l'étude paramétrique, la différence entre FAEp et FAEh est beaucoup plus importante à 50 keV qu'à 80 keV. On peut voir ici, que cette différence évolue avec la concentration en iode et s'amplifie quand celle-ci augmente. Pour 20 mg/mL d'iode, on surévalue le FAE de 36 et 9% pour 50 et 80 keV respectivement lorsque l'on considère une distribution homogène.

Sphéroïdes Pour ce modèle, on comparera aux FAEh et FAEp, le FAE que l'on obtiendrait en calculant l'augmentation en énergie déposée dans le volume macroscopique correspondant au réseau (volume non-voxélisé). La concentration en iode de ce volume macroscopique est la concentration macroscopique équivalente. L'exemple, figure 6.33, compare la géométrie utilisée pour le calcul microscopique du FAEp noté (0 | 10 | 10) à la géométrie utilisée pour le calcul macroscopique (un volume, de la dimension du réseau utilisé dans le premier cas, contenant 2 mg/mL).

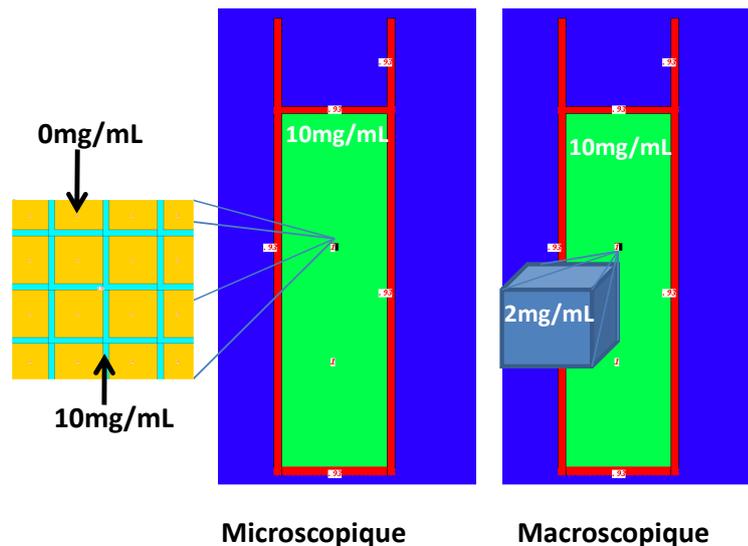


Figure 6.33 – Géométries pour calculer les FAE au niveau microscopique avec un réseau de $10 \times 10 \times 10$ cellules ($p = 20\%$) et au niveau macroscopique dans la ROI correspondante.

Les résultats obtenus sont présentés figure 6.34. Les FAEp et FAEh obtenus à 50 keV sont très différents (2.5 et 7.1 pour 50 mg/mL d'iode). Cela montre bien l'importance de prendre en compte la porosité. On voit aussi que considérer la concentration macroscopique donne une bonne indication sur la valeur du FAE à considérer même si celle-ci reste surestimée ($\sim 7\%$ pour 30 et 50 mg/mL).

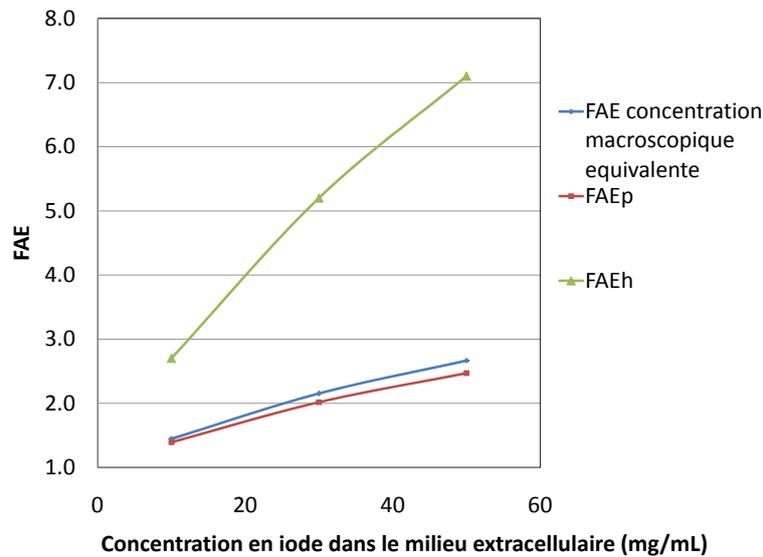


Figure 6.34 – FAE obtenus, à 50 keV, pour 10, 30 et 50 mg/mL d'iode dans le tube et milieu extra-cellulaire, soit une concentration macroscopique équivalente de 2, 6 et 10 mg/mL (porosité = 21%), respectivement.

6.4.2.3 Comparaison des simulations *versus* résultats *in vitro*

Pour comparer les $SER_{10\%}$ aux FAEh et FAEp les différences relative sont indiquées dans les tableaux 6.14 et 6.15 et se calculent comme suit :

$$Différence\ relative\ (\%) = \frac{SER_{10\%} - FAE}{SER_{10\%}} \times 100.$$

Cellules en suspension et iode (Ioméron) Dans ce paragraphe, sont présentés les résultats expérimentaux (obtenus par différents expérimentateurs) ainsi que les FAE simulés correspondant (cf tableau 6.14) pour des cellules (F98 ou SQ20B) irradiées en suspension et en présence d'iode (Ioméron).

Energie (keV)	Concentration (mg/mL)	FAEp	FAEh	$SER_{10\%}$	Différence relative FAEp (%)	Différence relative FAEh (%)	Auteur	Type cellulaire
50	3	1.33 ± 0.01	1.51 ± 0.01	1.4	5	-8	S. Corde	SQ20B
50	10	2.06 ± 0.01	2.63 ± 0.02	2	-3	-32	S. Corde	SQ20B
50	20	2.95 ± 0.02	4.01 ± 0.02	2.3	-28	-74	S. Corde	SQ20B
32.8	10	1.39 ± 0.01	1.45 ± 0.01	1.05	-32	-38	S. Corde	SQ20B
33.5	10	1.59 ± 0.01	1.96 ± 0.01	1.23	-29	-59	S. Corde	SQ20B
70	10	2.04 ± 0.01	2.23 ± 0.01	1.45	-41	-54	S. Corde	SQ20B
50	10	2.06 ± 0.01	2.63 ± 0.02	1.46	-41	-80	L. Bobyk	F98
34	10	1.61 ± 0.01	2.01 ± 0.01	1.4	-15	-44	M. Edouard	F98
50	10	2.06 ± 0.01	2.63 ± 0.02	2.25	8	-17	M. Edouard	F98
80	10	1.82 ± 0.01	1.94 ± 0.01	1.6	-14	-21	M. Edouard	F98

Tableau 6.14 – Comparaison $SER_{10\%}$ et FAE pour des cellules irradiées en suspension en présence de Ioméron (porosité = 95%).

Sphéroïdes et iode (Ioméron) Dans ce paragraphe, sont présentés les résultats expérimentaux ainsi que les FAE simulés correspondant (cf tableau 6.15) pour des cellules F98 irradiées en sphéroïdes et en présence d'iode (Ioméron).

Energie (keV)	Cc iode (mg/mL)	FAEp	FAEh	SER _{10%}	Différence relative FAEp (%)	Différence relative FAEh (%)
34	10	1.12 ±0.01	2.02 ±0.01	1.5	25	-35
50	10	1.39 ±0.01	2.59 ±0.01	1.4	1	-85
50	30	2.02 ±0.01	5.18 ±0.01	1.8	-12	-188
80	10	1.39 ±0.01	1.92 ±0.01	1.1	-26	-75

Tableau 6.15 – Comparaison SER_{10%} et FAE pour des sphéroïdes irradiés à différentes énergies et concentrations d'iode (Ioméron).

Corrélation entre FAE et SER_{10%} Les corrélations obtenues entre les FAE et SER_{10%} que ce soit pour des cellules en suspension ou des sphéroïdes irradiés en présence d'iode sont représentées figure 6.35. On voit sur cette représentation que prendre en compte le fait qu'il n'y ait pas d'iode dans la cellule permet un meilleur lien entre valeurs simulées et valeurs expérimentales (les points bleus sont plus proches de la droite de référence que les rouges).

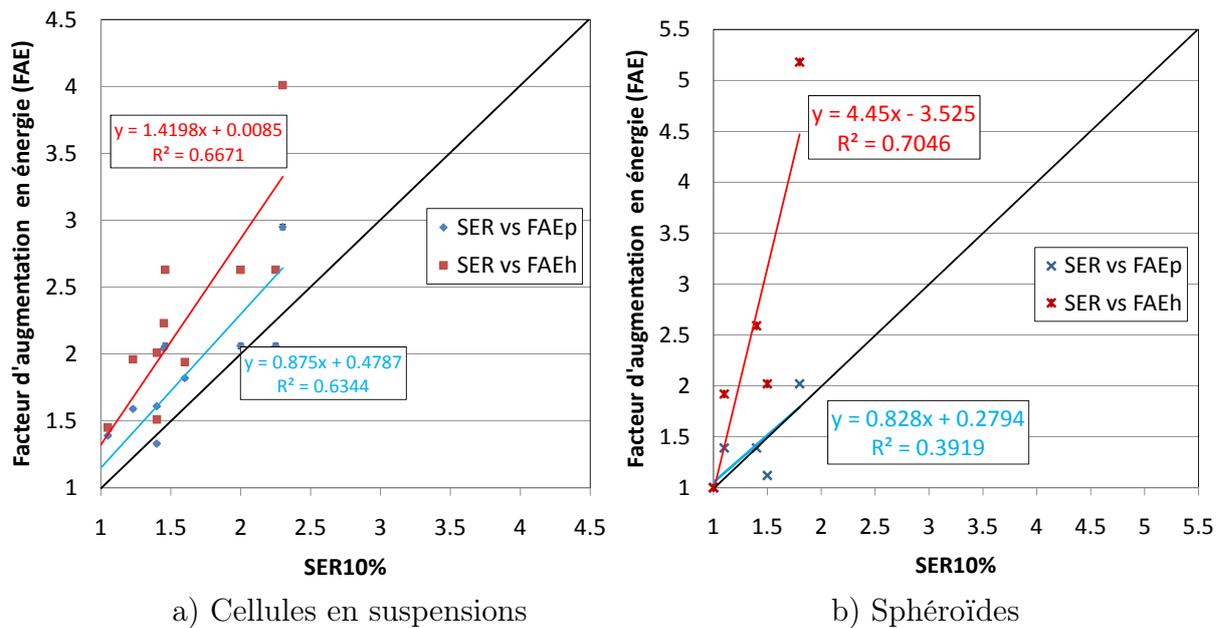


Figure 6.35 – Corrélation entre FAEh, FAEp calculés et les SER_{10%} obtenus expérimentalement. Les points correspondant sont représentés en rouge pour la corrélation entre FAEh et SER_{10%} et en bleu entre FAEp et SER_{10%}. Les valeurs obtenues sont indiquées pour les cellules en suspension (figure a) et pour les sphéroïdes (figure b).

Interprétations Les FAEh sont tous supérieurs au SER_{10%} et dans tous les cas, les valeurs de FAEp sont plus proches du SER_{10%} que les FAEh. Notons, qu'il n'est cependant pas facile d'estimer l'incertitude du SER_{10%}. De grandes différences dans les valeurs de SER_{10%} ont été obtenues (tableau 6.14). Par exemple, pour des cellules en suspension, à 50 keV, en présence de 10 mg/mL d'iode (Ioméron), pour différentes lignées cellulaires et différents expérimentateurs : des SER_{10%} de 2, 1.5 et 2.3 ont été mesurés.

Conclusion L'approche utilisée ici pour estimer le facteur d'augmentation en énergie déposée dans les cellules en prenant en compte le fait qu'il n'y ait en réalité pas d'iode dans les cellules a donné de bons résultats en termes de corrélation entre les valeurs simulées et les valeurs expérimentales tant pour les cellules en suspension que pour les sphéroïdes. Le modèle 3D de sphéroïde s'approche d'un modèle de tissu cérébral de type poreux ayant une porosité de 20%. Celui-ci peut être considéré comme un bon modèle pour évaluer l'efficacité d'un traitement dans une configuration tissulaire dans lequel l'agent doit diffuser comme nous l'avons suggéré dans le chapitre 2.

6.5 Facteurs d'augmentation en énergie pour une concentration macroscopique connue

Il s'agit d'étudier l'influence de la microdistribution de l'élément lourd pour une concentration connue à l'échelle macroscopique, mesurée, par exemple, à l'aide d'un outil d'imagerie tel que la tomographie par rayons-X. L'idée sous jacente est de calculer les concentrations en iode présentes dans l'espace interstitiel en fonction de la concentration mesurée macroscopiquement et de la porosité du tissu.

Nous avons tout d'abord étudié l'influence du paramètre "porosité" sur le calcul des facteurs d'augmentation en énergie (FAE) pour une "concentration macroscopique" constante de 10 mg/mL à 34, 50 et 80 keV. Puis, nous avons calculé les FAE obtenus dans une configuration dite "*in vivo*" (porosité de 20%).

6.5.1 FAE suivant la porosité et l'énergie des photons incidents, pour une concentration macroscopique de 10 mg/mL

Nous avons ici, fait varier la concentration en iode de l'espace interstitiel en fonction de la porosité de telle manière que la concentration à l'échelle macroscopique reste égale à 10 mg/mL.

6.5.1.1 Géométrie utilisée et paramètres d'irradiation

Pour chaque cas, c'est-à-dire pour chaque porosité (de 30 à 95 %) et chaque énergie (34, 50 et 80 keV), trois simulations correspondant à trois distributions d'iode différentes ont été faites. Elles ont permis de calculer les FAEh et FAEp :

- 0 mg/mL d'iode dans les cellules, l'espace interstitiel et dans le tube (cf figure 6.36, géométrie A, noté (0 | 0 | 0)).
- 10 mg/mL d'iode dans les cellules, l'espace interstitiel et dans le tube (cf figure 6.36, géométrie B, noté (10 | 10 | 10)).
- 0 mg/mL d'iode dans les cellules, la concentration équivalente dans l'espace interstitiel tel que au niveau macroscopique le réseau a une concentration de 10 mg/mL d'iode et 10 mg/mL dans le tube (cf tableau 6.3 et figure 6.36, géométrie C, noté (0 | c_{eq} | 10)).

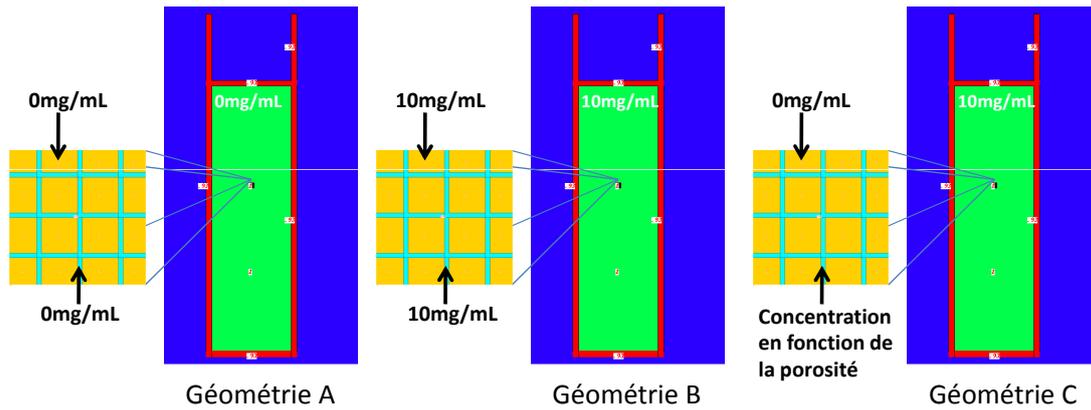


Figure 6.36 – Géométries utilisées pour l'étude de la porosité pour une concentration en iode macroscopique constante.

Pour rappel les concentrations en iode dans l'espace interstitiel, équivalentes à une concentration macroscopique de 10 mg/mL, sont indiquées tableau 6.17 en fonction de la porosité.

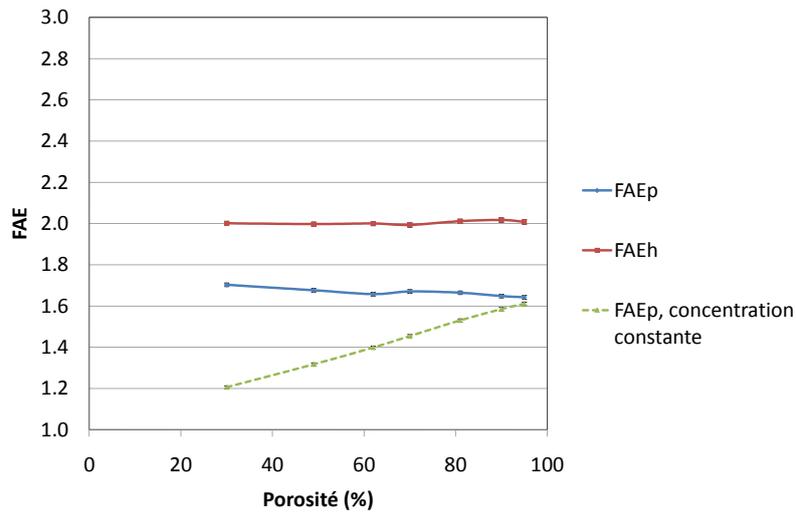
porosité (%)	30	49	62	70	81	90	95
[I] correspondante (mg/mL)	33.33	20.13	16.13	14.29	12.35	11.11	10.53

Tableau 6.17 – Correspondances entre porosité et concentration en iode dans le milieu interstitiel pour conserver une concentration macroscopique de 10 mg/mL (avec 0 mg/mL d'iode dans la cellule).

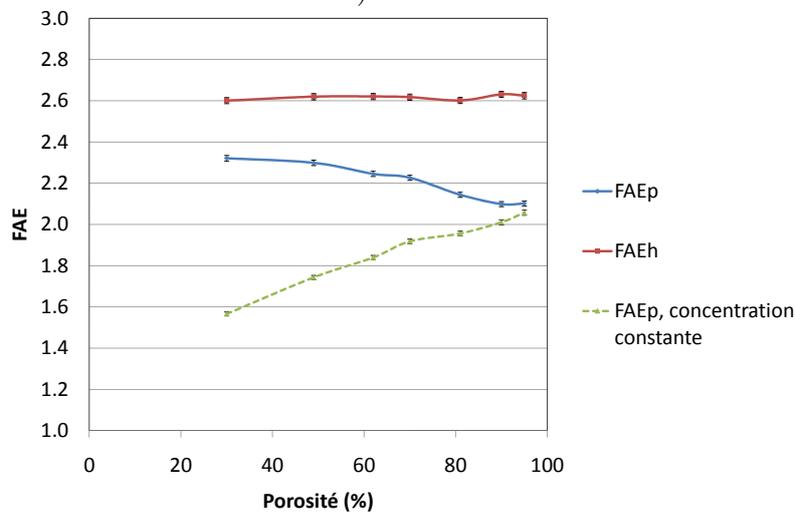
6.5.1.2 Résultats et interprétation de l'étude paramétrique

Les FAE obtenus en fonction de la porosité et de l'énergie des photons sont représentés figure 6.37. Les résultats obtenus dans la section précédente, c'est-à-dire pour une concentration interstitielle et une concentration dans le tube de 10 mg/mL sont indiqués en pointillés.

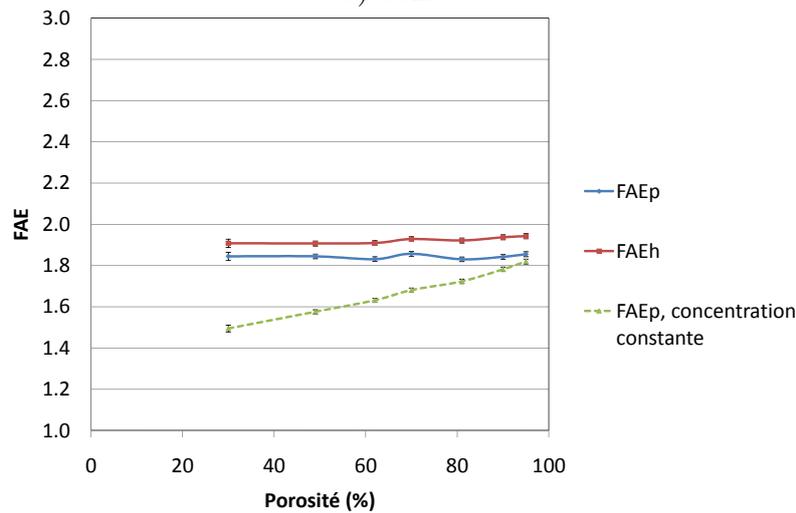
La figure 6.38 indique les différences relatives entre les deux FAE en fonction de la porosité et de l'énergie ($Diff = \frac{FAE_h - FAE_p}{FAE_h}$) avec FAE_p obtenu pour une concentration macroscopique équivalente.



a) 34keV



b) 50keV



c) 80keV

Figure 6.37 – Facteurs d'augmentation en énergie (FAE) obtenus à 34, 50 et 80 keV en prenant en compte ou non la porosité et pour une concentration macroscopique équivalent à 10 mg/mL ($FAEh = \frac{(10|10|10)}{(0|0|0)}$, $FAEp = \frac{(0|c_{eq}|10)}{(0|0|0)}$). Les résultats obtenus pour 0 mg/mL d'iode dans les cellules, une concentration dans le milieu interstitiel et le tube constante de 10 mg/mL sont indiqués en pointillés ($FAEp,cc \text{ constante} = \frac{(0|10|10)}{(0|0|0)}$).

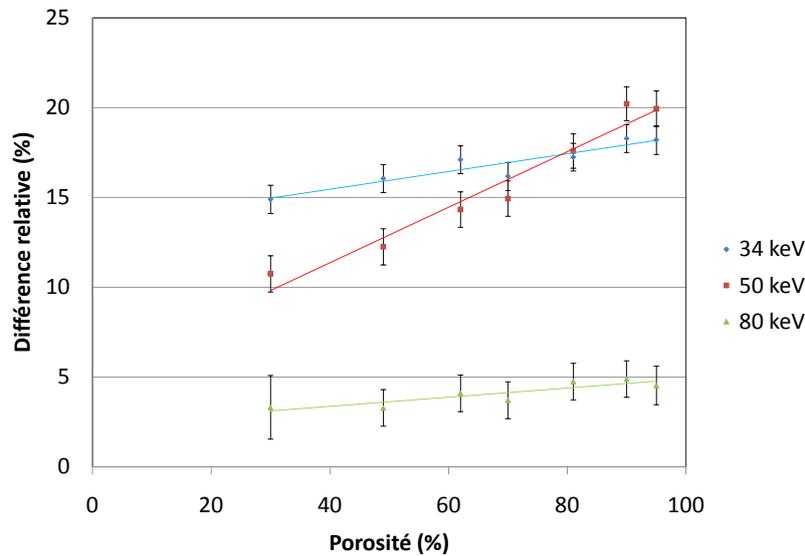


Figure 6.38 – Différences relatives entre les FAEh et FAEp en fonction de la porosité et de l'énergie pour une concentration macroscopique équivalente à 10 mg/mL d'iode, un fit linéaire est proposé pour aider la visualisation.

Dans cette étude la quantité en iode est constante dans un voxel (concentration macroscopique constante) et la dimension de la cellule est constante. Par conséquent, quand la porosité diminue l'espace interstitiel diminue et la concentration en iode augmente.

A 34 et 50 keV, la différence relative dépend d'avantage de la porosité et d'autant plus à 50 keV qu'à 34 keV. Il apparaît, pour ces énergies, important de prendre en compte la porosité du milieu, la distance entre les atomes d'iode et les cibles cellulaires. Pour une porosité de l'ordre de celle du tissu cérébral (20%), en extrapolant les données obtenues, on surestime l'augmentation du dépôt d'énergie avec le calcul du FAEh de environ 14, 8 et 3% pour des photons de 34, 50 et 80 keV respectivement.

A 34 keV, le parcours du photo-électron est négligeable ($E_c < 1$ keV). L'énergie des photo-électrons ne peut donc pas expliquer la dépendance entre les FAEp et la porosité. Pendant l'effet photoélectrique de photons de 34 keV sur des atomes d'iode, une énergie moyenne de 6.8 keV est libérée sous forme d'électrons (voie non-radiative) et 26.2 keV est transportée par voie radiative (cf tableau 6.18). Ces valeurs moyennes prennent en compte la probabilité que l'effet photoélectrique entraîne une réorganisation du cortège électronique soit par voie radiative soit par voie non-radiative (cf chapitre 1). Si l'on considère que l'énergie non-radiative (6.8 keV électrons) est déposée localement (parcours $< 2\mu m$) et que les 26.2 keV transmis en moyenne aux photons de fluorescence sont déposés à distance du point d'interaction, on a environ 21% de l'énergie d'interaction ($6.8/(6.8+26.2)$) qui est déposée localement. Ce pourcentage correspond à la différence moyenne obtenue entre les FAEp et FAEh pour des photons de 34 keV ($\frac{FAEh-FAEp}{FAEp}$). En supposant que les photons de fluorescence interagissent de manière homogène dans tout le volume, c'est la réorganisation par voie non-radiative qui peut jouer sur les valeurs de FAEp.

Énergie du photon (keV)	T_{photoe^-} (keV)	Parcours du photoélectron (μm)	Énergies moyennes (keV)	
			Photons	Électrons
34	0.68	négligeable	26.2	6.8
50	16.8	~ 6	0.4	4.6
70	36.8	~ 10	0.4	4.3
85	51.8	~ 40	0.35	4.05

Tableau 6.18 – Énergies moyennes totales libérées après réorganisation du cortège électronique, d'après [Corde, 2002, Perkins et al., 1991], l'énergie cinétique T_{photoe^-} des photoélectrons et leur parcours dans l'eau sont indiqués.

A 50 keV, l'énergie véhiculée par les photo-électrons s'ajoute à l'énergie déposée localement par voie non-radiative. 50 keV apparaît comme l'énergie la plus dépendante de la distribution en iode. Cette dépendance entre la porosité et les valeurs de FAEp pour des photons de 50 keV n'est pas surprenante puisque le parcours des photo-électrons est relativement faible ($\sim 6 \mu m$), inférieure aux dimensions de la cellule, mais suffisant pour qu'une partie de ces électrons atteigne les cellules.

Utiliser un faisceau de photons de 80 keV favorise une distribution de dose homogène puisque la distribution de l'iode, la distance entre l'iode et les cibles, est moins critique à 80 keV qu'à 50 ou 34 keV. A 80 keV, la distribution de l'iode n'a que peu d'influence sur le FAEp et l'écart entre FAEh et FAEp dépend peu de la porosité ($\sim 4\%$, cf figure 6.38). Cela veut dire, qu'à 80 keV, une fois la contribution à l'énergie déposée localement par l'iode présent dans la cellule enlevée, la distance entre l'iode et la cible n'influence que peu l'énergie déposée dans celle-ci. A 80 keV, calculer le FAEh (c'est-à-dire ne pas prendre en compte la microdistribution de l'iode ou considérer qu'il n'y a pas d'iode dans les cellules) plutôt que le FAEp ne semble pas conduire à une erreur si ce n'est que l'on surestime l'augmentation du dépôt en énergie d'environ 4% (pour les dimensions considérées ici).

6.5.2 FAE en fonction de la concentration en iode pour un modèle *in vivo*

Nous avons calculé les facteurs d'augmentation en énergie obtenus dans une configuration "*in vivo*". Le principe de ces simulations est de connaître soit la concentration macroscopique finale à l'aide d'un outil d'imagerie (scanner, tomographie par rayonnement synchrotron), soit la concentration en éléments lourds injectée. L'intérieur du tube est donc "assimilé" à un cerveau où l'on connaîtrait soit la concentration macroscopique, soit la concentration de l'espace interstitiel. L'intérieur du tube correspond à la concentration macroscopique et la concentration de l'espace interstitiel est calculé de tel manière que la concentration macroscopique équivalente du réseau soit égale à la concentration du tube. Ces facteurs pourront être utilisés dans un but de prédiction des résultats d'expérimentations animales, même si la réponse *in vivo* dépend d'autres paramètres tels que la dose, la distribution en éléments lourds...

6.5.2.1 Géométrie utilisée et paramètres d'irradiation

Le tableau 6.19 récapitule les différentes combinaisons en concentration en iode utilisées dans cette étude. La concentration macroscopique correspond à celle du tube et la concentration microscopique à celle de l'espace interstitiel (cf figure 6.39). Le réseau de cellules est constitué de voxels de $13 \times 13 \times 13 \mu m^3$ et de cellules de $12 \times 12 \times 12 \mu m^3$ de

côté pour travailler avec une porosité de 21%, porosité proche de celle proposée dans la littérature [Vargová et al., 2003] pour le tissu cérébral.

Cellule	0	0	0	0	0
Espace interstitiel	0	10	30	50	100
Tube	0	2	6	10	20

Tableau 6.19 – Concentrations en iode utilisées en mg/mL pour les différents cas de figure étudiés dans cette section. La concentration de l'espace interstitiel est calculée de telle sorte que la concentration macroscopique soit équivalente à celle du tube.

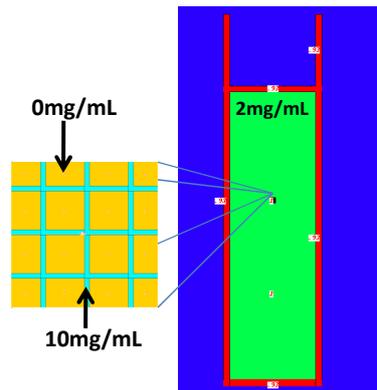


Figure 6.39 – Géométrie pour une concentration interstitielle connue, exemple pour 10 mg/mL injecté soit 2 mg/mL en concentration macroscopique équivalente.

6.5.2.2 Résultats des simulations

Figure 6.40 est représentée l'évolution des FAE_p obtenus en fonction de la concentration en iode et de l'énergie du faisceau incident.

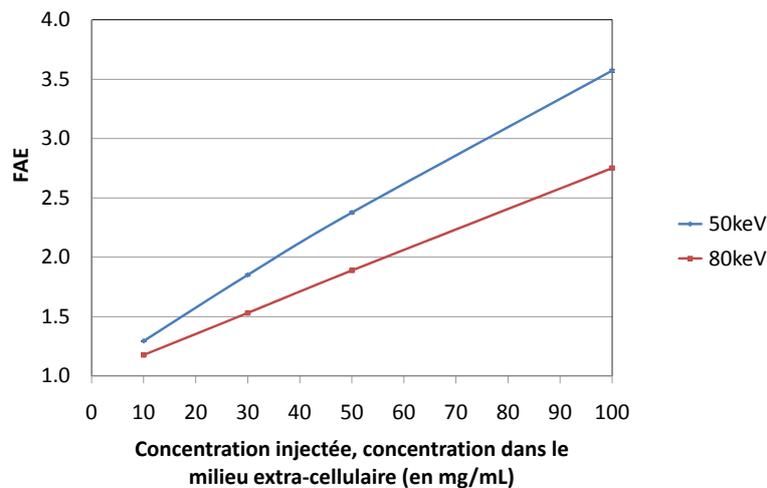


Figure 6.40 – FAE en fonction de la concentration en iode dans l'espace interstitiel et de l'énergie.

6.6 Facteurs d'augmentation en énergie au niveau du noyau cellulaire

Nous avons, dans cette étude, estimé le facteur d'augmentation en énergie obtenu dans un volume représentant le noyau, centré dans la cellule, pour une irradiation avec des photons de 50 et 80 keV.

6.6.1 Géométrie utilisée et paramètres d'irradiation

Nous avons utilisé une porosité de 95% et une concentration en iode dans le milieu interstitiel de 10 mg/mL. Tous les volumes du réseau sont cubiques : le voxel ($22 \mu\text{m}$ de côté), la cellule ($8 \mu\text{m}$ de côté) et le noyau ($3 \mu\text{m}$ de côté). La taille du noyau a été choisie par rapport aux études de Jorgensen *et al.* [Jorgensen et al., 2007] et Neumann *et al.* [Neumann and Nurse, 2007] qui ont trouvé que le rapport volumique entre le noyau et la cellule est relativement constant au fil des différentes transformations cellulaires. Ils ont trouvé que ce rapport vaut 7 et 8% suivant l'étude. En choisissant un cube de $3 \mu\text{m}$ de côté pour le noyau, le rapport volumique entre le noyau et la cellule est de 5%.

Les calculs de FAEp ont été réalisés dans un réseau de $10 \times 10 \times 10$ voxels. Le réseau est placé au centre du tube rempli d'eau. On a donc 0 mg/mL d'iode dans les cellules, 10 mg/mL d'iode dans l'espace interstitiel et 0 mg/mL dans le tube (configuration noté : (0 | 10 | 0)).

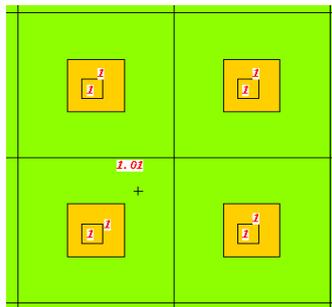


Figure 6.41 – Schéma de 4 voxels de la géométrie utilisée (voxel cubique : $22 \mu\text{m}$ de côté, cellule cubique : $8 \mu\text{m}$ et le noyau cubique : $3 \mu\text{m}$). Les calculs ont été réalisés dans un réseau de $10 \times 10 \times 10$ voxels ayant une porosité de 95%.

6.6.2 Résultats et interprétations des simulations

Les facteurs d'augmentation en énergie (FAE) obtenus dans les noyaux pour 10 mg/mL d'iode dans l'espace interstitiel sont comparés figure 6.42 aux FAE obtenus dans les cellules. Les facteurs d'augmentation en énergie s'avèrent être significativement différents ($p < 0.001$) entre le noyau et la cellule pour l'irradiation à 50 keV mais non significativement différents à 80 keV. Ceci confirme la forte dépendance de la distribution en iode pour une irradiation à 50 keV. Il faut cependant considérer que ce résultat a été obtenu pour un noyau centré et des formes cubiques de cellules et de noyaux. Il est important de souligner encore une fois que les résultats ne sont pas à prendre en "absolue" mais que cette étude sert à appréhender l'effet de tel ou tel paramètre.

Il convient donc de conclure pour cette étude, que la distribution en énergie dans la cellule n'est pas homogène pour une irradiation à 50 keV, ce qui conduit à une diminution du facteur d'augmentation en énergie dans le noyau si ce dernier est centré. On peut aussi

remarquer que les valeurs de FAE au niveau du noyau sont relativement proches entre les trois énergies (environ 1.8 et 1.6 pour des photons de 50 et 80 keV).

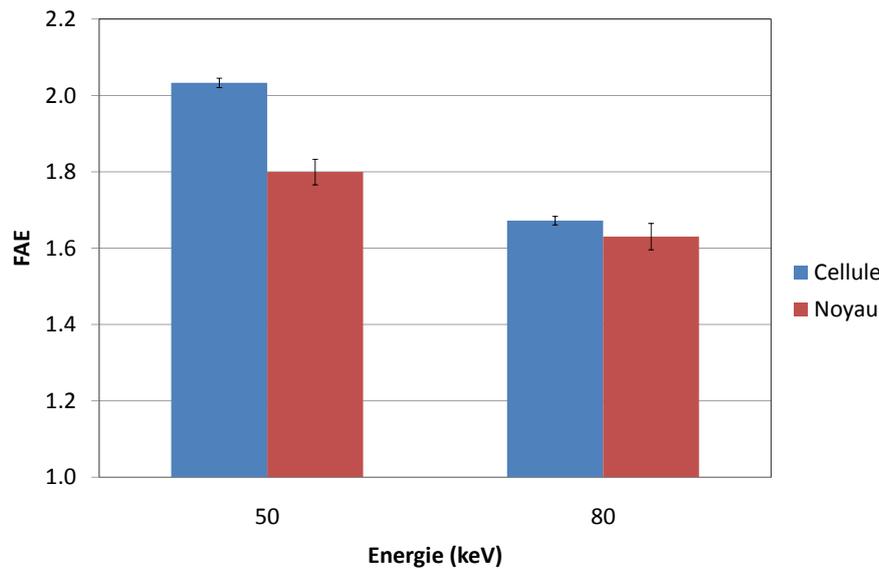


Figure 6.42 – Comparaison des FAE obtenus dans la cellule et dans les noyaux pour des photons de 50 et 80 keV et pour 10 mg/mL d'iode dans l'espace interstitiel et 0 mg/mL dans le tube (0 | 10 | 0).

6.7 Conclusion

L'énergie optimale proposée dans l'étude dosimétrique (partie I), correspondant à un compromis entre augmentation de dose dans la tumeur et protection de l'os, s'avère être particulièrement intéressante au niveau microdosimétrique. L'efficacité des photons au niveau microdosimétrique en fonction de l'énergie a été étudiée en terme d'énergie linéique moyenne en dose et a montré qu'entre 35 et 80 keV [Verhaegen et al., 2005], l'efficacité biologique des rayons-X augmente (grâce à la diminution de l'énergie des électrons secondaires due à l'augmentation des interactions Compton par rapport à l'effet photoélectrique). Cela suggère que les photons de 80 keV ont une efficacité biologique plus importante dans l'eau que ceux de plus basses énergies comme 50 keV. Notre étude a montré que la distribution en dose finale sera moins dépendante de la distribution en iode à 80 keV qu'à 34 ou 50 keV. Nous avons aussi montré que pour un plan de traitement effectué à 80 keV, on surestime l'augmentation de dose dans la tumeur de 3 à 5% suivant la porosité lorsque l'on ne tient pas compte de la micro-bio-distribution de l'iode (estimation valable pour une distribution homogène de l'iode dans l'espace interstitiel). A 80 keV, la distance entre l'iode, à l'extérieur de la cellule, et le noyau n'affecte pas significativement le facteur d'augmentation en énergie au niveau du noyau par rapport à celui dans la cellule (ce qui n'est pas le cas à 50 keV). C'est pour toutes ces raisons qu'utiliser un faisceau de 80 keV est intéressant d'un point de vue microdosimétrique (efficacité biologique, dépendance vis-à-vis de la distribution en iode) et d'un point de vue macroscopique pour la protection des tissus sains et de l'os.

Le modèle en 3D de sphéroïde s'est avéré être un bon modèle en tant que milieu biologique ayant une porosité proche de celle du tissu cérébrale (20%). Ce modèle a permis d'obtenir une meilleure corrélation entre les résultats *in vitro* et les simulations Monte Carlo avec l'approche microdosimétrique proposée dans cette étude comparée à l'approche dite macroscopique (sans prendre en compte le fait qu'il n'y ait pas d'iode

dans les cellules). Les différences restantes sont probablement dues à deux principales raisons :

- le fait que les deux facteurs d’augmentation en énergie (pour les simulations ou les études *in vitro*) ne sont pas définis de la même façon
- le fait que le facteur biologique ($\text{SER}_{10\%}$) est déterminé à partir de deux fits de valeurs expérimentales.

Conclusion générale et perspectives

Le traitement des gliomes malins reste un domaine de recherche préclinique et clinique très actif pour lequel de nombreux essais précliniques innovants sont basés sur l'utilisation de méthodes physiques ou d'agents chimiques. En clinique, les meilleurs résultats ont été obtenus avec une association chimiothérapie-radiothérapie [Stupp et al., 2007, Stupp et al., 2009]. Pour autant, aucune solution thérapeutique n'offre à ce jour des possibilités curatrices significatives, et cette pathologie reste un problème de santé publique majeur [Stupp et al., 2007]. Le gliome est le type de tumeur cérébrale le plus fréquent chez l'adulte. Aujourd'hui la durée moyenne de vie des patients atteints de gliome de haut grade est de moins d'une année. L'utilisation de nouvelles sources de rayonnement potentiellement plus efficaces, ou permettant de mieux préserver les zones saines (effet différentiel accru) est une piste privilégiée en radiothérapie pour améliorer le gain thérapeutique. Un effort de recherche important a notamment été réalisé les 10 dernières années pour le développement de techniques novatrices et prometteuses de radiothérapie utilisant le rayonnement synchrotron [Adam et al., 2003, Deman et al., 2010, Prezado et al., 2009b, Serduc et al., 2010].

La « Radiothérapie Stéréotaxique par Rayonnement Synchrotron » (RSRS) a été récemment proposée comme nouvelle technique pour le traitement de tumeurs cérébrales [Adam et al., 2003, Biston et al., 2004]. Il a été démontré que l'effet différentiel recherché en radiothérapie, entre la dose déposée dans la tumeur et dans les tissus sains, peut être augmenté grâce à la présence d'éléments lourds dans la tumeur et d'une irradiation à basse énergie (rayons-X d'énergie < 100 keV). Le but est d'obtenir un meilleur contrôle tumoral et une meilleure protection du tissu cérébral. Des essais cliniques sont en préparation.

Ce travail de thèse s'articule autour de deux axes de recherche. Le premier objectif de la thèse a été d'optimiser d'un point de vue physique les paramètres de plan de traitement tels que l'énergie et la géométrie d'irradiation, dans le but de préparer les essais cliniques prévus au synchrotron de Grenoble. Le second axe de recherche concerne l'influence de la micro-bio-distribution de l'élément lourd dans la tumeur sur les valeurs dosimétriques. Les différentes études ont été réalisées avec des simulations Monte Carlo (code MCNPX, Los Alamos National Laboratory, NM).

Dans l'étude dosimétrique décrite dans la 1ère partie de la thèse, nous avons tout d'abord réalisé une étude paramétrique prenant en compte : l'énergie du rayonnement incident, différents éléments lourds potentiellement utilisables pour renforcer la dose en RSRS (l'iode, le gadolinium et l'or) et leur concentration. Les facteurs d'augmentation en dose et les distributions de dose ont été étudiés, en portant un intérêt particulier à la protection des tissus sains, tels que le cerveau entourant la tumeur ou l'os du crâne. Nous avons trouvé que l'énergie optimale en termes d'augmentation de dose pour l'iode, le gadolinium et l'or se situe entre 50-90 keV. Pour l'iode, 80 keV a été choisie comme compromis entre l'augmentation de dose dans la tumeur et la protection de l'os. Les profils

de dose et histogrammes dose volume ont montré que la dose délivrée au tissu cérébral sain est inférieure avec la RSRS qu’avec la radiothérapie conventionnelle. Ce gain en dose dans le tissu cérébral sain pourrait permettre d’augmenter la dose dans la tumeur et atteindre ainsi des doses curatives. La dose dans l’os reste en dessous des tolérances pour un faisceau de 80 keV et des doses proposées pour les essais cliniques [Prezado et al., 2009a].

Dans la deuxième partie de cette étude, nous avons proposé une méthode pour améliorer l’homogénéité de la dose délivrée à la tumeur. Selon la position de la tumeur par rapport à l’axe du patient, un gradient de dose important peut être observé si l’on utilise une irradiation uniforme, puisque le faisceau sera atténué différemment en fonction de l’incidence considérée. Une méthode de pondération adéquate a donc été mise en place. Nous avons aussi démontré qu’il est intéressant d’irradier avec un nombre pair de faisceaux pour compenser l’atténuation de l’un par son opposé. L’optimum trouvé en termes d’homogénéité est d’utiliser au minimum 6 faisceaux. D’autre part, plus on utilise de faisceaux, plus on réduit les doses déposées dans les tissus sains et notamment l’os. L’utilisation d’un faisceau monochromatique plutôt que polychromatique permet de réduire considérablement les points chauds de dose déposée dans l’os. Cette méthodologie d’optimisation a été validée sur des données complexes, provenant d’un patient porteur d’une métastase adjacente à l’os.

Cette étude a été publiée dans la revue « Medical Physics » et a été jointe en Annexe B de la thèse.

Les suites à donner à cette étude dosimétrique seraient de prendre en compte l’hétérogénéité en termes de concentration en iode dans la tumeur ainsi que de développer les méthodologies en terme de plan de traitement pour compenser celle-ci. Nous avons suggéré d’évaluer deux approches : la modulation par intensité des faisceaux (IMRT) ou la modulation de l’énergie des photons.

Dans la seconde partie de la thèse, nous avons évalué l’importance de considérer la microdistribution des éléments lourds par rapport aux cellules, pour la radiothérapie stéréotaxique par rayonnement synchrotron.

L’agent de contraste iodé restant dans le milieu extracellulaire, la distance entre les atomes d’iode et les cibles cellulaires (telles que le noyau) peut avoir une importance sur l’efficacité du traitement. Par simulations Monte Carlo, nous avons estimé l’augmentation du dépôt en énergie dans les cellules en fonction de leur environnement, de l’énergie des photons incidents et de la concentration en iode. Nous avons aussi étudié l’influence du volume extracellulaire (milieu iodé) et celui du volume occupé par les cellules. Ceci revient à considérer un milieu “poreux” dont on fait varier le coefficient de porosité. En utilisant cette approche, nous avons cherché à répondre à trois questions :

- “ Cette approche, permet-elle de mieux corréler les calculs dosimétriques aux survies cellulaires mesurées *in vitro* ? ”
- “ Quelle erreur faisons-nous lorsque nous réalisons des plans de traitement en considérant la distribution macroscopique de l’iode tel que nous l’avons présenté dans la première partie de thèse ? ”
- “ Quelle est l’énergie optimale, du point de vue microdosimétrique ? ”.

La première de ces questions a été motivée par les différences observées entre les résultats expérimentaux *in vitro* (survie cellulaire) et les simulations. L’évaluation expérimentale conduit en effet à des facteurs d’augmentation de dose qui sont en général inférieurs aux facteurs d’augmentation de dose simulés ou théoriques. Ceci peut évidemment s’expliquer par l’incertitude des expérimentations biologiques, qui est difficile à estimer, mais aussi par une erreur au niveau dosimétrique. Le calcul dosimétrique peut comporter deux sources

principales d'erreurs : une mauvaise représentation de la géométrie (considérer le milieu homogène, par exemple) et les erreurs de calculs dépendantes du code utilisé.

Nous avons comparé les résultats des simulations réalisées à l'échelle microscopique avec des résultats expérimentaux. Deux modèles *in vitro* ont été utilisés : un modèle de cellules en suspension, couramment utilisé dans l'équipe, et un modèle 3D de sphéroïdes (modèle poreux), mis en place aux cours de cette thèse. En considérant la répartition de l'élément lourd à l'échelle microscopique, nous avons amélioré l'estimation de la dose déposée dans les cellules et ainsi obtenu une corrélation satisfaisante entre le modèle et les expériences *in vitro*.

Nous avons ensuite comparé l'augmentation de l'énergie déposée dans les cellules selon que l'on considère la concentration en iode homogène et constante dans le tissu (approche macroscopique, c'est-à-dire qu'il y a de l'iode dans les cellules et l'espace interstitiel) ou que l'on considère sa micro-biodistribution (iode présent uniquement dans l'espace interstitiel). L'approche proposée ici est de calculer la concentration microscopique équivalente présente dans le milieu extracellulaire en fonction de la porosité, de telle sorte que la quantité d'iode dans chaque géométrie soit constante.

Parmi les 3 énergies évaluées (34, 50 et 80 keV), nous avons observé que la distribution en iode affecte davantage le dépôt d'énergie dans les cellules lorsque l'on considère une irradiation à 50 keV. A 50 keV, l'augmentation de l'énergie déposée dépend significativement de la porosité et de façon relativement importante (différence avec une distribution homogène de 10-20%). Ceci est dû au faible parcours des photoélectrons générés par effet photoélectrique sur les atomes d'iode. La distribution de l'iode a un rôle moins important à 80 keV en comparaison avec 50 ou 34 keV. A 80 keV, ne pas prendre en compte la microdistribution de l'iode, conduit à surestimer l'augmentation du dépôt en énergie d'environ 3% pour un tissu cérébral (20% de porosité) et entre 3 et 5% de manière général (en fonction de la porosité).

80 keV est une énergie particulièrement intéressante d'un point de vue microdosimétrique par rapport à la gamme d'énergie disponible. En effet, le parcours relativement grand des électrons secondaires générés par des photons de 80 keV permet une distribution de dose dans la tumeur plus homogène qu'avec des photons de plus faibles énergies, la distribution en iode apparaît comme un paramètre moins critique pour l'efficacité biologique du traitement. Cette conclusion a été appuyée par la modélisation de l'augmentation de l'énergie déposée dans les noyaux. La distribution en énergie dans la cellule n'est pas homogène pour une irradiation à 50 keV, ce qui conduit à une diminution du facteur d'augmentation en énergie dans le noyau (lorsque l'on considère les noyaux centrés dans les cellules). Cette augmentation d'énergie déposée au niveau du noyau est relativement proche à 50 et 80 keV : 1.8 et 1.6 respectivement. Il semble donc préférable de favoriser une distribution de dose moins dépendante de la topologie de l'iode avec une irradiation à 80 keV.

Comme perspectives de cette dernière étude, il serait intéressant de poursuivre cette approche à l'échelle de la nano dosimétrie, en particulier pour des éléments tels que l'or sous formes de nanoparticules, car celles-ci ont la capacité à intégrer les cellules. L'efficacité de la RSRS utilisant des agents pharmacologiques s'incorporant aux cellules (or) ou à l'ADN (IUdR ou composés platinés) est limitée par rapport à la quantité d'éléments qu'il est possible d'obtenir par cellule. Il serait intéressant d'estimer, par une approche nanodosimétrique, le nombre d'atomes lourds nécessaire pour obtenir une augmentation d'effet biologique significatif due à l'augmentation de l'effet photoélectrique. C'est un des objectifs de la thèse de Rachel Delorme (CEA Saclay), en ce qui concerne les nanoparticules d'or.

Au niveau expérimental, l'utilisation d'un compteur proportionnel pourrait permettre

de valider les simulations en mesurant l'énergie déposée dans un volume équivalent à celui de la cellule pour un compteur dopé ou non avec de l'iode en périphérie du volume sensible. Cette approche fait référence à différentes études en BNCT (dopé avec du bore) [Hugtenburg et al., 2009a, Hsu et al., 2009, Wu et al., 1992] ou avec du gadolinium [Hugtenburg et al., 2007] et permettrait d'éliminer tout biais biologique. L'énergie linéique moyenne en dose pourrait aussi être déterminée avec un compteur proportionnel en mesurant le spectre linéique dans un volume micrométrique.

Enfin, le modèle du sphéroïde pourrait permettre d'étudier de manière plus simple que dans le cadre d'expériences précliniques, la combinaison d'approches thérapeutiques dans un modèle hétérogène, comme une tumeur, en termes d'environnement cellulaire et de phases cellulaires. L'idée serait de reprendre la démarche de Neshasteh-Riz *et al.* [Neshasteh-Riz et al., 1998] qui ont étudié différents IUdR radioactifs dont certains sont des émetteurs d'électrons Auger (dépôt très local de l'énergie) et d'autres émetteurs de particules β^- (parcours de l'électron suffisant pour atteindre les cellules voisines). La combinaison de ces deux types d'iode radioactif a permis un traitement plus efficace sur les sphéroïdes car les électrons Auger sont efficaces sur les cellules en phase S ayant incorporées l'IUdR et les particules β^- peuvent atteindre les cellules tumorales voisines qui ne sont pas en phase de division cellulaire. Pour notre technique de radiothérapie, l'idée serait de combiner un agent de contraste iodé que l'on peut administrer en forte concentration avec un agent pharmacologique qui cible les cellules tumorales en division comme l'IUdR. L'agent de contraste permettrait d'obtenir une augmentation de dose relativement importante. L'agent pharmacologique ciblant les cellules tumorales en division (par exemple l'IUdR) permettrait d'obtenir une forte toxicité différentielle entre les cellules tumorales en division et les cellules saines cérébrales ayant une faible activité de division cellulaire.

Pour finir, une autre voie qui serait intéressante à étudier est celle proposée par Doiron *et al.* dans une étude portant sur l'effet radiosensibilisant du BrdU [Doiron et al., 1999]. Dans cette étude, les auteurs ont montré que le fractionnement temporel de la dose d'irradiation permet d'optimiser l'effet radiosensibilisant du BrdU ce qui serait transposable à d'autres agents pharmacologiques comme l'IUdR. D'autre part, Adam *et al.* en 2006 [Adam et al., 2006], ont aussi montré que de faibles doses étaient plus efficaces en radiothérapie synchrotron renforcée par de l'iode (administré sous la forme d'agent de contraste), en termes d'effet différentiel. Le fractionnement temporel de l'irradiation est aussi très largement utilisé en radiothérapie conventionnelle pour favoriser la réparation des tissus sains irradiés.

Il serait intéressant de compléter notre approche en étudiant la survie cellulaire sur le modèle de cellules en sphéroïdes, en combinant une irradiation fractionnée à 80 keV en présence d'un agent de contraste iodé; après avoir incubé les cellules pendant plusieurs jours avec un agent pharmacologique tel que l'IUdR.

En conclusion, les études dosimétriques, microdosimétriques et *in vitro*, réalisées dans le cadre de ce travail de doctorat, confrontées à d'autres études similaires de la littérature (par exemple, la BNCT ou la thérapie Auger), invitent à faire progresser la technique de RSRS vers une approche multimodale combinant un agent extracellulaire qui peut s'accumuler en grande quantité dans la zone tumorale et un agent pharmacologique lié (ou proche) de l'ADN, ciblant les cellules en division et les cellules infiltrantes.

Bibliographie

- [Adam et al., 2005] Adam, J. F., Biston, M. C., Joubert, A., Charvet, A. M., LeBas, J. F., Estève, F., and Elleaume, H. (2005). Enhanced delivery of iodine for synchrotron stereotactic radiotherapy by means of intracarotid injection and blood-brain barrier disruption : quantitative iodine biodistribution studies and associated dosimetry. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*, 61(4) :1173–1182.
- [Adam et al., 2003] Adam, J. F., Elleaume, H., Joubert, A., Biston, M. C., Charvet, A. M., Balosso, J., Bas, J. F. L., and Estève, F. (2003). Synchrotron radiation therapy of malignant brain glioma loaded with an iodinated contrast agent : first trial on rats bearing f98 gliomas. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*, 57(5) :1413–1426.
- [Adam et al., 2006] Adam, J. F., Joubert, A., Biston, M. C., Charvet, A. M., Peoc'h, M., LeBas, J. F., Balosso, J., Estève, F., and Elleaume, H. (2006). Prolonged survival of fischer rats bearing f98 glioma after iodine-enhanced synchrotron stereotactic radiotherapy. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*, 64(2) :603–611.
- [Adams et al., 1977] Adams, F. H., Norman, A., Mello, R. S., and Bass, D. (1977). Effect of radiation and contrast media on chromosomes. preliminary report. *Radiology*, 124(3) :823–826.
- [Amols and Zellmer, 1984] Amols, H. I. and Zellmer, D. L. (1984). Microdosimetry of 10-15 mev bremsstrahlung x rays. *Med Phys*, 11(3) :247–253.
- [Barendsen, 1982] Barendsen, G. W. (1982). Dose fractionation, dose rate and iso-effect relationships for normal tissue responses. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*, 8(11) :1981–1997.
- [Barth, 2009] Barth, R. F. (2009). Boron neutron capture therapy at the crossroads : challenges and opportunities. *Appl Radiat Isot*, 67(7-8 Suppl) :S3–S6.
- [Barth et al., 2000] Barth, R. F., Yang, W., Rotaru, J. H., Moeschberger, M. L., Boesel, C. P., Soloway, A. H., Joel, D. D., Nawrocky, M. M., Ono, K., and Goodman, J. H. (2000). Boron neutron capture therapy of brain tumors : enhanced survival and cure following blood-brain barrier disruption and intracarotid injection of sodium borocaptate and boronophenylalanine. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*, 47(1) :209–218.
- [Bartkowiak et al., 2001] Bartkowiak, D., Högner, S., Nothdurft, W., and Röttinger, E. M. (2001). Cell cycle and growth response of cho cells to x-irradiation : threshold-free repair at low doses. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*, 50(1) :221–227.
- [Bauchinger et al., 1983] Bauchinger, M., Schmid, E., Streng, S., and Dresch, J. (1983). Quantitative analysis of the chromosome damage at first division of human lymphocytes after ^{60}Co gamma-irradiation. *Radiat Environ Biophys*, 22(3) :225–229.
- [Bender and Gooch, 1962] Bender, M. A. and Gooch, P. C. (1962). The kinetics of x-ray survival of mammalian cells in vitro. *Int J Radiat Biol*, 5 :133–145.
- [Berger, 1963] Berger, M. J. (1963). Methods in computational physics. *Academic press, New York*.

- [Bernhardt et al., 2004] Bernhardt, P., Friedland, W., and Paretzke, H. G. (2004). The role of atomic inner shell relaxations for photon-induced dna damage. *Radiat Environ Biophys*, 43(2) :77–84.
- [Biston et al., 2004] Biston, M. C., Joubert, A., Adam, J. F., Elleaume, H., Bohic, S., Charvet, A. M., Estève, F., Foray, N., and Balosso, J. (2004). Cure of fisher rats bearing radioresistant f98 glioma treated with cis-platinum and irradiated with monochromatic synchrotron x-rays. *Cancer Res*, 64(7) :2317–2323.
- [Blunck and Leisegang, 1950] Blunck, O. and Leisegang, S. (1950). Zum energieverlust schneller elektronen in dunnen schichten. *Z Physik*, 128 :1950.
- [Bouchet et al., 1996] Bouchet, L. G., Bolch, W. E., Weber, D. A., Atkins, H. L., and Poston, J. W. (1996). A revised dosimetric model of the adult head and brain. *J Nucl Med*, 37(7) :1226–1236.
- [Boudou, 2006] Boudou, C. (2006). *Dosimétrie pour la radiothérapie stéréotaxique en rayonnement synchrotron : calculs Monte-Carlo et gels radiosensibles*. PhD thesis, UJF.
- [Boudou et al., 2005] Boudou, C., Balosso, J., Estève, F., and Elleaume, H. (2005). Monte carlo dosimetry for synchrotron stereotactic radiotherapy of brain tumours. *Phys Med Biol*, 50(20) :4841–4851.
- [Bradley et al., 2001] Bradley, P. D., Rosenfeld, A. B., and Zaidler, M. (2001). Solid state microdosimetry. *Nucl Instrum Methods Phys Res B*, 184(1-2) :135–157.
- [Brenner, 2008] Brenner, D. J. (2008). The linear-quadratic model is an appropriate methodology for determining isoeffective doses at large doses per fraction. *Semin Radiat Oncol*, 18(4) :234–239.
- [Buffa et al., 2001] Buffa, F. M., West, C., Byrne, K., Moore, J. V., and Nahum, A. E. (2001). Radiation response and cure rate of human colon adenocarcinoma spheroids of different size : the significance of hypoxia on tumor control modelling. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*, 49(4) :1109–1118.
- [Callisen et al., 1979] Callisen, H. H., Norman, A., and Adams, F. H. (1979). Absorbed dose in the presence of contrast agents during pediatric cardiac catheterization. *Med Phys*, 6(6) :504–509.
- [Carlsson et al., 2003] Carlsson, J., Kullberg, E. B., Capala, J., Sjöberg, S., Edwards, K., and Gedda, L. (2003). Ligand liposomes and boron neutron capture therapy. *J Neurooncol*, 62(1-2) :47–59.
- [Casciari et al., 1988] Casciari, J. J., Sotirchos, S. V., and Sutherland, R. M. (1988). Glucose diffusivity in multicellular tumor spheroids. *Cancer Res*, 48(14) :3905–3909.
- [Chadwick and Leenhouts, 1973] Chadwick, K. H. and Leenhouts, H. P. (1973). A molecular theory of cell survival. *Phys Med Biol*, 18(1) :78–87.
- [Champion et al., 2009] Champion, C., Incerti, S., Aouchiche, H., and Oubaziz, D. (2009). A free-parameter theoretical model for describing the electron elastic scattering in water in the geant4 toolkit. *Rad. Phys. Chem.*, 78 :745–750.
- [Chauvie et al., 2007] Chauvie, S., Francis, Z., Guatelli, S., Incerti, S., Mascialino, B., Moretto, P., Niemenen, P., and Oia, M. G. (2007). Geant4 physics processes for microdosimetry simulation : design fondation and implementation of the first set of models. *IEEE Trans. Nucl. Sci.*, 54 (6-2) :2619–28.
- [Chen et al., 2006] Chen, J., Roos, H., and Kellerer, A. M. (2006). Radiation quality of photons in small and large receptors—a microdosimetric analysis. *Radiat Prot Dosimetry*, 118(3) :238–242.

- [Chiavassa et al., 2006] Chiavassa, S., Aubineau-Lanière, I., Bitar, A., Lisbona, A., Barbet, J., Franck, D., Jourdain, J. R., and Bardiès, M. (2006). Validation of a personalized dosimetric evaluation tool (oedipe) for targeted radiotherapy based on the monte carlo mcnp code. *Phys Med Biol*, 51(3) :601–616.
- [Chiavassa et al., 2005] Chiavassa, S., Bardiès, M., Guiraud-Vitoux, F., Bruel, D., Jourdain, J. R., Franck, D., and Aubineau-Lanière, I. (2005). Oedipe : a personalized dosimetric tool associating voxel-based models with mcnp. *Cancer Biother Radiopharm*, 20(3) :325–332.
- [Clarke and Jevremovic, 2005] Clarke, S. D. and Jevremovic, T. (2005). Mcnp5 evaluation of dose dissipation in tissue-like media exposed to low-energy monoenergetic x-ray microbeam. *Radiat Environ Biophys*, 44(3) :225–233.
- [Cochran et al., 1980] Cochran, S. T., Khodadoust, A., and Norman, A. (1980). Cytogenetic effects of contrast material in patients undergoing excretory urography. *Radiology*, 136(1) :43–46.
- [Cochran and Norman, 1982] Cochran, S. T. and Norman, A. (1982). Cytogenetic effects of contrast material : diatrizoate versus iohalamate. *Invest Radiol*, 17(2) :178–182.
- [Corde, 2002] Corde, S. (2002). *Développement méthodologique de l'application d'agents pharmacologiques renforceurs de l'effet photoélectrique pour l'utilisation du rayonnement synchrotron en radiothérapie anticancéreuse*. PhD thesis, université Joseph Fourier - Grenoble 1.
- [Corde et al., 2003] Corde, S., Balosso, J., Elleaume, H., Renier, M., Joubert, A., Biston, M. C., Adam, J. F., Charvet, A. M., Brochard, T., Bas, J. F. L., Estève, F., and Foray, N. (2003). Synchrotron photoactivation of cisplatin elicits an extra number of dna breaks that stimulate rad51-mediated repair pathways. *Cancer Res*, 63(12) :3221–3227.
- [Corde et al., 2002] Corde, S., Biston, M. C., Elleaume, H., Estève, F., Charvet, A. M., Joubert, A., Ducros, V., Bohic, S., Simionovici, A., Brochard, T., Nemoz, C., Renier, M., Troprès, I., Fiedler, S., Bravin, A., Thomlinson, W., Bas, J. F. L., and Balosso, J. (2002). Lack of cell death enhancement after irradiation with monochromatic synchrotron x rays at the k-shell edge of platinum incorporated in living sq20b human cells as cis-diamminedichloroplatinum (ii). *Radiat Res*, 158(6) :763–770.
- [Corde et al., 2004] Corde, S., Joubert, A., Adam, J. F., Charvet, A. M., Bas, J. F. L., Estève, F., Elleaume, H., and Balosso, J. (2004). Synchrotron radiation-based experimental determination of the optimal energy for cell radiotoxicity enhancement following photoelectric effect on stable iodinated compounds. *Br J Cancer*, 91(3) :544–551.
- [Cruz et al., 2001a] Cruz, G. A. S., Palmer, M. R., Matatagui, E., and Zamenhof, R. G. (2001a). A theoretical model for event statistics in microdosimetry. i : Uniform distribution of heavy ion tracks. *Med Phys*, 28(6) :988–996.
- [Cruz et al., 2001b] Cruz, G. A. S., Palmer, M. R., Matatagui, E., and Zamenhof, R. G. (2001b). A theoretical model for event statistics in microdosimetry. ii : Nonuniform distribution of heavy ion tracks. *Med Phys*, 28(6) :997–1005.
- [Cullen et al., 1989] Cullen, D. E., Chen, M. H., Hubbell, J. H., Perkins, S. T., Pletchaty, E. F., Rathkopf, J. A., and Scofielf, J. H. (1989). Tables and graphs of photon-interaction cross sections from 10 ev to 100 gev derived from the llnl evaluated atomic data library (eadl), z=1-100. *Lawrence Livermore National Laboratory Publication*, 6.
- [Cullen et al., 1997] Cullen, D. E., Hubbell, J. H., and Kissel, L. (1997). Epd197 : The evaluated photon data library '97 version. *Lawrence Livermore National Laboratory Publication*, 6(5).

- [Curtis, 1986] Curtis, S. B. (1986). Lethal and potentially lethal lesions induced by radiation—a unified repair model. *Radiat Res*, 106(2) :252–270.
- [Dawson et al., 1987] Dawson, P., Penhaligon, M., Smith, E., and Saunders, J. (1987). Iodinated contrast agents as "radiosensitizers". *Br J Radiol*, 60(710) :201–203.
- [Dawson et al., 1988] Dawson, P., Penhaligon, M., Smith, E., and Saunders, J. (1988). Synergistic cytotoxicity of iodinated contrast agents and x-radiation. *Invest Radiol*, 23 Suppl 1 :S110–S113.
- [Deimling et al., 2009] Deimling, L. I., Machado, F. L. S., Welker, A. G., Peres, L. M., and Santos-Mello, R. (2009). Micronucleus induction in mouse polychromatic erythrocytes by an x-ray contrast agent containing iodine. *Mutat Res*, 672(1) :65–68.
- [Deman et al., 2010] Deman, P., Edouard, M., Besse, S., Vautrin, M., Elleaume, H., Adam, J. F., and Esteve, F. (2010). Radiothérapie par rayonnement synchrotron synchrotron radiation therapy. *Accepté dans la revue de medecine interne*.
- [Dertinger and Hülser, 1981] Dertinger, H. and Hülser, D. (1981). Increased radioresistance of cells in cultured multicell spheroids. i. dependence on cellular interaction. *Radiat Environ Biophys*, 19(2) :101–107.
- [Diaz, 2003] Diaz, A. Z. (2003). Assessment of the results from the phase i/ii boron neutron capture therapy trials at the brookhaven national laboratory from a clinician's point of view. *J Neurooncol*, 62(1-2) :101–109.
- [Dingfelder et al., 1998] Dingfelder, M., Hantke, D., Inokuti, M., and Paretzke, H. G. (1998). Electron inelastic-scattering cross sections in liquid water. *Radiation physics and chemistry*, 53 :1–18.
- [Dingfelder et al., 2000] Dingfelder, M., Inokuti, M., and Paretzke, H. G. (2000). Inelastic collision cross sections of liquid water for interactions of energetic protons. *Radiation physics and chemistry*, 59 :255–75.
- [Doiron et al., 1999] Doiron, A., Yapp, D. T., Olivares, M., Zhu, J. X., and Lehnert, S. (1999). Tumor radiosensitization by sustained intratumoral release of bromodeoxyuridine. *Cancer Res*, 59(15) :3677–3681.
- [Dong et al., 1994] Dong, L. C., Hoffman, A. S., and Yan, Q. (1994). Dextran permeation through poly(n-isopropylacrylamide) hydrogels. *J Biomater Sci Polym Ed*, 5(5) :473–484.
- [Duparc, 1988] Duparc, J. (1988). Les radiolésions de la hanche chez l'adulte. *Cahier d'enseignement de la SOFCOT*, 31 :8-15.
- [Durand, 1982] Durand, R. E. (1982). Use of hoechst 33342 for cell selection from multicell systems. *J Histochem Cytochem*, 30(2) :117–122.
- [Durand, 1986] Durand, R. E. (1986). Chemosensitivity testing in v79 spheroids : drug delivery and cellular microenvironment. *J Natl Cancer Inst*, 77(1) :247–252.
- [El-Kareh et al., 1993] El-Kareh, A. W., Braunstein, S. L., and Secomb, T. W. (1993). Effect of cell arrangement and interstitial volume fraction on the diffusivity of monoclonal antibodies in tissue. *Biophys J*, 64(5) :1638–1646.
- [Elowitz et al., 1998] Elowitz, E. H., Bergland, R. M., Coderre, J. A., Joel, D. D., Chadha, M., and Chanana, A. D. (1998). Biodistribution of p-boronophenylalanine in patients with glioblastoma multiforme for use in boron neutron capture therapy. *Neurosurgery*, 42(3) :463–8 ; discussion 468–9.
- [Emami et al., 1991] Emami, B., Lyman, J., Brown, A., Coia, L., Goitein, M., Munzenrider, J. E., Shank, B., Solin, L. J., and Wesson, M. (1991). Tolerance of normal tissue to therapeutic irradiation. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*, 21(1) :109–122.

- [Erlichman and Vidgen, 1984] Erlichman, C. and Vidgen, D. (1984). Cytotoxicity of adriamycin in mgh-u1 cells grown as monolayer cultures, spheroids, and xenografts in immune-deprived mice. *Cancer Res*, 44(11) :5369–5375.
- [Ewing, 1926] Ewing, J. (1926). Radiation osteitis. *Acta Radiology*, 6 :399–412.
- [Fowler et al., 2003] Fowler, J. F., Ritter, M. A., Chappell, R. J., and Brenner, D. J. (2003). What hypofractionated protocols should be tested for prostate cancer? *Int J Radiat Oncol Biol Phys*, 56(4) :1093–1104.
- [Francis et al., 2009] Francis, Z., Incerti, S., Capra, R., Mascialino, B., Villagrasa, C., and Montarou, G. (2009). A set of processes dedicated for the molecular scale track structure simulations in liquid water for the geant4 monte-carlo toolkit. *Applied Radiation and Isotopes (submitted)*.
- [Frankenberg et al., 2002a] Frankenberg, D., Kelnhofer, K., Bär, K., and Frankenberg-Schwager, M. (2002a). Enhanced neoplastic transformation by mammography x rays relative to 200 kvp x rays : indication for a strong dependence on photon energy of the rbe(m) for various end points. *Radiat Res*, 157(1) :99–105.
- [Frankenberg et al., 2002b] Frankenberg, D., Kelnhofer, K., Garg, I., Bär, K., and Frankenberg-Schwager, M. (2002b). Enhanced mutation and neoplastic transformation in human cells by 29 kvp relative to 200 kvp x rays indicating a strong dependence of rbe on photon energy. *Radiat Prot Dosimetry*, 99(1-4) :261–264.
- [Friedland et al., 2003] Friedland, W., Jacob, P., Bernhardt, P., Paretzke, H. G., and Dingfelder, M. (2003). Simulation of dna damage after proton irradiation. *Radiat Res*, 159(3) :401–410.
- [Garcia et al., 2006] Garcia, L. M., Leblanc, J., Wilkins, D., and Raaphorst, G. P. (2006). Fitting the linear-quadratic model to detailed data sets for different dose ranges. *Phys Med Biol*, 51(11) :2813–2823.
- [Garty et al., 2010] Garty, G., Schulte, R., Shchemelinin, S., Leloup, C., Assaf, G., Breskin, A., Chechik, R., Bashkirov, V., Milligan, J., and Grosswendt, B. (2010). A nanodosimetric model of radiation-induced clustered dna damage yields. *Phys Med Biol*, 55(3) :761–781.
- [Garty et al., 2002] Garty, G., Shchemelinin, S., Breskin, A., Chechik, R., Assaf, G., Orion, I., Bashkirov, V., Schulte, R., and Grosswendt, B. (2002). The performance of a novel ion-counting nanodosimeter. *Nuclear Instruments and Methods*, 491 :212–35.
- [Gastaldo et al., 2008] Gastaldo, J., Boudou, C., Lamalle, L., Troprès, I., Corde, S., Sollier, A., Rucka, G., and Elleaume, H. (2008). Normoxic polyacrylamide gel doped with iodine : response versus x-ray energy. *Eur J Radiol*, 68(3 Suppl) :S118–S120.
- [Gedda et al., 2000] Gedda, L., Ghaneolhosseini, H., Nilsson, P., Nyholm, K., Pettersson, J., Sjöberg, S., and Carlsson, J. (2000). The influence of lipophilicity on binding of boronated dna-intercalating compounds in human glioma spheroids. *Anticancer Drug Des*, 15(4) :277–286.
- [Genç et al., 2004] Genç, M., Kreder, N. C., van Rijbroek, A. B., Stalpers, L. J. A., and Haveman, J. (2004). Enhancement of effects of irradiation by gemcitabine in a glioblastoma cell line and cell line spheroids. *J Cancer Res Clin Oncol*, 130(1) :45–51.
- [Goodman et al., 2008] Goodman, T. T., Chen, J., Matveev, K., and Pun, S. H. (2008). Spatio-temporal modeling of nanoparticle delivery to multicellular tumor spheroids. *Biotechnol Bioeng*, 101(2) :388–399.
- [Goudsmit and Saunderson, 1940] Goudsmit, S. and Saunderson, J. L. (1940). Multiple scattering of electrons. *Phys Rev*, 57 :24.

- [Green et al., 1998] Green, S., Gainey, M., and Wojnecki, C. (1998). Determination of an rbe for an epidermal neutron beam for bnct from microdosimetric measurements. *ISNCT8, Lajolla, California*.
- [Görlach and Acker, 1994] Görlach, A. and Acker, H. (1994). po_2 - and ph -gradients in multicellular spheroids and their relationship to cellular metabolism and radiation sensitivity of malignant human tumor cells. *Biochim Biophys Acta*, 1227(3) :105–112.
- [Grudzenski et al., 2009] Grudzenski, S., Kuefner, M. A., Heckmann, M. B., Uder, M., and Löbrich, M. (2009). Contrast medium-enhanced radiation damage caused by ct examinations. *Radiology*, 253(3) :706–714.
- [Guerrero and Li, 2004] Guerrero, M. and Li, X. A. (2004). Extending the linear-quadratic model for large fraction doses pertinent to stereotactic radiotherapy. *Phys Med Biol*, 49(20) :4825–4835.
- [Habrand, 1988] Habrand, J. L. (1988). Complications de la radiothérapie au niveau du bassin. *Cahier d'enseignement de la SOFCOT. Ed Duparc.*, 31 :1–7.
- [Hagmar et al., 1994] Hagmar, L., Brögger, A., Hansteen, I. L., Heim, S., Högstedt, B., Knudsen, L., Lambert, B., Linnainmaa, K., Mitelman, F., and Nordenson, I. (1994). Cancer risk in humans predicted by increased levels of chromosomal aberrations in lymphocytes : Nordic study group on the health risk of chromosome damage. *Cancer Res*, 54(11) :2919–2922.
- [Hainfeld et al., 2008] Hainfeld, J. F., Dilmanian, F. A., Slatkin, D. N., and Smilowitz, H. M. (2008). Radiotherapy enhancement with gold nanoparticles. *J Pharm Pharmacol*, 60(8) :977–985.
- [Harling et al., 1995] Harling, O. K., Roberts, K. A., Moulin, D. J., and Rogus, R. D. (1995). Head phantoms for neutron capture therapy. *Med Phys*, 22(5) :579–583.
- [Haston et al., 1994] Haston, C. K., Hill, R. P., Newcomb, C. H., and Dyk, J. V. (1994). Radiation-induced lung damage in rats : the influence of fraction spacing on effect per fraction. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*, 28(3) :633–640.
- [Hatanaka, 1975] Hatanaka, H. (1975). A revised boron-neutron capture therapy for malignant brain tumors. ii. interim clinical result with the patients excluding previous treatments. *J Neurol*, 209(2) :81–94.
- [Hawkins, 1994] Hawkins, R. B. (1994). A statistical theory of cell killing by radiation of varying linear energy transfer. *Radiat Res*, 140(3) :366–374.
- [Hawkins, 2001] Hawkins, R. B. (2001). A microdosimetric-kinetic model for the sensitization of v79 cells to radiation by incorporation of bromodeoxyuridine. *Radiat Res*, 155(5) :698–702.
- [Hawkins, 2003] Hawkins, R. B. (2003). A microdosimetric-kinetic model for the effect of non-poisson distribution of lethal lesions on the variation of rbe with let. *Radiat Res*, 160(1) :61–69.
- [Hideghéty et al., 2003] Hideghéty, K., Sauerwein, W., Wittig, A., Götz, C., Paquis, P., Grochulla, F., Haselsberger, K., Wolbers, J., Moss, R., Huiskamp, R., Fankhauser, H., de Vries, M., and Gabel, D. (2003). Tissue uptake of bsh in patients with glioblastoma in the eortc 11961 phase i bnct trial. *J Neurooncol*, 62(1-2) :145–156.
- [Hobbs et al., 1998] Hobbs, S. K., Monsky, W. L., Yuan, F., Roberts, W. G., Griffith, L., Torchilin, V. P., and Jain, R. K. (1998). Regulation of transport pathways in tumor vessels : role of tumor type and microenvironment. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 95(8) :4607–4612.

- [Hongo et al., 1994] Hongo, A., Seki, S., Akiyama, K., and Kudo, T. (1994). A comparison of in vitro platinum-dna adduct formation between carboplatin and cisplatin. *Int J Biochem*, 26(8) :1009–1016.
- [Hsu et al., 2009] Hsu, F. Y., Hsiao, H. W., Tung, C. J., Liu, H. M., and Chou, F. I. (2009). Microdosimetry study of thor bncet beam using tissue equivalent proportional counter. *Appl Radiat Isot*, 67(7-8 Suppl) :S175–S178.
- [Hugtenburg et al., 2009a] Hugtenburg, R. P., Baker, A. E. R., and Green, S. (2009a). Monte carlo modelling of the influence of boron microdistribution on bncet microdosimetry. *Appl Radiat Isot*, 67(7-8 Suppl) :S168–S170.
- [Hugtenburg et al., 2009b] Hugtenburg, R. P., Baker, A. E. R., and Green, S. (2009b). X-ray synchrotron microdosimetry : experimental benchmark of a general-purpose monte carlo code. *Appl Radiat Isot*, 67(3) :433–435.
- [Hugtenburg et al., 2007] Hugtenburg, R. P., Chaoui, Z., and Pattison, J. E. (2007). Microdosimetric event distributions in sub-cellular volumes with a general purpose monte carlo code. *Nucl Instrum Methods A*, 580 :157–160.
- [Incerti et al., 2009] Incerti, S., Mascialino, B., Champion, C., Tran, H. N., Capra, R., Francis, Z., Guatelli, S., Gueye, P., Mantero, A., Moretto, P., Niemenen, P., Rosenfeld, A., Villagrasa, C., and Zacharatou, C. (2009). Statistical validation of geant4-dna physics models for microdosimetry. *In preparation*.
- [Iwamoto et al., 1987] Iwamoto, K. S., Cochran, S. T., Winter, J., Holburt, E., Higashida, R. T., and Norman, A. (1987). Radiation dose enhancement therapy with iodine in rabbit vx-2 brain tumors. *Radiother Oncol*, 8(2) :161–170.
- [Iwamoto et al., 1993] Iwamoto, K. S., Norman, A., Freshwater, D. B., Ingram, M., and Skillen, R. G. (1993). Diagnosis and treatment of spontaneous canine brain tumors with a ct scanner. *Radiother Oncol*, 26(1) :76–78.
- [Iwamoto et al., 1990] Iwamoto, K. S., Norman, A., Kagan, A. R., Wollin, M., Olch, A., Bellotti, J., Ingram, M., and Skillen, R. G. (1990). The ct scanner as a therapy machine. *Radiother Oncol*, 19(4) :337–343.
- [Joneja et al., 2003] Joneja, O. P., Negreanu, C., Stepanek, J., and Chawl, R. (2003). Comparison of monte carlo simulations of photon/electron dosimetry in microscale applications. *Australas Phys Eng Sci Med*, 26(2) :63–69.
- [Jorgensen et al., 2007] Jorgensen, P., Edgington, N. P., Schneider, B. L., Rupes, I., Tyers, M., and Fitcher, B. (2007). The size of the nucleus increases as yeast cells grow. *Mol Biol Cell*, 18(9) :3523–3532.
- [Jost et al., 2008] Jost, G., Golfier, S., Lawaczeck, R., Weinmann, H. J., Gerlach, M., Cibik, L., Krumrey, M., Fratzscher, D., Rabe, J., Arkadiev, V., Haschke, M., Langhoff, N., Wedell, R., Luedemann, L., Wust, P., and Pietsch, H. (2008). Imaging-therapy computed tomography with quasi-monochromatic x-rays. *Eur J Radiol*, 68(3 Suppl) :S63–S68.
- [Jost et al., 2009] Jost, G., Mensing, T., Golfier, S., Lawaczeck, R., Pietsch, H., Hütter, J., Cibik, L., Gerlach, M., Krumrey, M., Fratzscher, D., Arkadiev, V., Wedell, R., Haschke, M., Langhoff, N., Wust, P., and Lüdemann, L. (2009). Photoelectric-enhanced radiation therapy with quasi-monochromatic computed tomography. *Med Phys*, 36(6) :2107–2117.
- [Joubert et al., 2005] Joubert, A., Biston, M. C., Boudou, C., Ravanat, J. L., Brochard, T., Charvet, A. M., Estève, F., Balosso, J., and Foray, N. (2005). Irradiation in presence of iodinated contrast agent results in radiosensitization of endothelial cells : consequences for computed tomography therapy. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*, 62(5) :1486–1496.

- [Karnas et al., 1999] Karnas, S. J., Yu, E., McGarry, R. C., and Battista, J. J. (1999). *Phys Med Biol*, 44 :2537–2549.
- [Kassis et al., 1998] Kassis, A. I., Wen, P., den Abbeele, A. D. V., Baranowska-Kortylewicz, J., Makrigiorgos, G. M., Metz, K. R., Matalka, K. Z., Cook, C. U., Sahu, S. K., Black, P. M., and Adelstein, S. J. (1998). 5-[125i]iodo-2'-deoxyuridine in the radiotherapy of brain tumors in rats. *J Nucl Med*, 39(7) :1148–1154.
- [Kegel et al., 2007] Kegel, P., Riballo, E., Kühne, M., Jeggo, P. A., and Löbrich, M. (2007). X-irradiation of cells on glass slides has a dose doubling impact. *DNA Repair (Amst)*, 6(11) :1692–1697.
- [Kellerer, 1978] Kellerer, A. M. (1978). A generalized formulation of dual radiation action. *radiation research*, 75 :471–488.
- [Kellerer, 2002] Kellerer, A. M. (2002). Electron spectra and the rbe of x rays. *Radiat Res*, 158(1) :13–22.
- [Kellerer and Chen, 2003] Kellerer, A. M. and Chen, J. (2003). Comparative microdosimetry of photoelectrons and compton electrons : an analysis in terms of generalized proximity functions. *Radiat Res*, 160(3) :324–333.
- [Kellerer and Chmelevsky, 1975a] Kellerer, A. M. and Chmelevsky, D. (1975a). Concepts of microdosimetry. i. quantities. *Radiat Environ Biophys*, 12(1) :61–69.
- [Kellerer and Chmelevsky, 1975b] Kellerer, A. M. and Chmelevsky, D. (1975b). Concepts of microdosimetry ii. probability distributions of the microdosimetric variables. *Radiat Environ Biophys*, 12(3) :205–216.
- [Kellerer and Chmelevsky, 1975c] Kellerer, A. M. and Chmelevsky, D. (1975c). Concepts of microdosimetry. iii. mean values of the microdosimetric distributions. *Radiat Environ Biophys*, 12(4) :321–335.
- [Kellerer and Rossi, 1972] Kellerer, A. M. and Rossi, H. H. (1972). The theory of dual radiation action. *Curr. Top. Radiat. Res.*, Q8 :85–158.
- [Ko et al., 2001] Ko, M. K., Park, W. K., Lee, J. H., and Chi, J. G. (2001). A histomorphometric study of corneal endothelial cells in normal human fetuses. *Exp Eye Res*, 72(4) :403–409.
- [Landau, 1944] Landau, L. (1944). On the energy loss of fast particules by ionisation. *J Phys USSR*, 8 :201.
- [Lappa et al., 1993] Lappa, A. V., Bigildeev, E. A., Burmistrov, D. S., and Vasilyev, O. N. (1993). "trion" code for radiation action calculations and its application in microdosimetry and radiobiology. *Radiat Environ Biophys*, 32(1) :1–19.
- [Lea, 1946] Lea, D. E. (1946). *Actions of radiations in Living cells*. Cambridge University press p69-100.
- [Lea and Catcheside, 1942] Lea, D. E. and Catcheside, D. G. (1942). The mechanism of the induction by radiation of chromosome aberrations in tradescantia. *Journal of genetics*, pages 216–245.
- [Lebovics and DeLaney, 1993] Lebovics, R. S. and DeLaney, T. F. (1993). Sensitizers of photoradiation and ionizing radiation in the management of head and neck cancer. *Med Clin North Am*, 77(3) :583–596.
- [Lehmenkühler et al., 1993] Lehmenkühler, A., Syková, E., Svoboda, J., Zilles, K., and Nicholson, C. (1993). Extracellular space parameters in the rat neocortex and subcortical white matter during postnatal development determined by diffusion analysis. *Neuroscience*, 55(2) :339–351.

- [Liu and Verhaegen, 2002] Liu, H. H. and Verhaegen, F. (2002). An investigation of energy spectrum and lineal energy variations in mega-voltage photon beams used for radiotherapy. *Radiat Prot Dosimetry*, 99(1-4) :425–427.
- [Manolopoulos et al., 2009] Manolopoulos, S., Wojnecki, C., Green, S., Hugtenburg, R. P., and Jones, B. (2009). Treatment planning for a synchrotron-based radiotherapy modality. *Appl Radiat Isot*, 67(3) :492–494.
- [Mello et al., 1983] Mello, R. S., Callisen, H., Winter, J., Kagan, A. R., and Norman, A. (1983). Radiation dose enhancement in tumors with iodine. *Med Phys*, 10(1) :75–78.
- [Mesa et al., 1999] Mesa, A. V., Norman, A., Solberg, T. D., Demarco, J. J., and Smathers, J. B. (1999). Dose distributions using kilovoltage x-rays and dose enhancement from iodine contrast agents. *Phys Med Biol*, 44(8) :1955–1968.
- [Mishima et al., 1989] Mishima, Y., Honda, C., Ichihashi, M., Obara, H., Hiratsuka, J., Fukuda, H., Karashima, H., Kobayashi, T., Kanda, K., and Yoshino, K. (1989). Treatment of malignant melanoma by single thermal neutron capture therapy with melanoma-seeking ^{10}B -compound. *Lancet*, 2(8659) :388–389.
- [Mueller-Klieser, 1997] Mueller-Klieser, W. (1997). Three-dimensional cell cultures : from molecular mechanisms to clinical applications. *Am J Physiol*, 273(4 Pt 1) :C1109–C1123.
- [Mueller-Klieser, 2000] Mueller-Klieser, W. (2000). Tumor biology and experimental therapeutics. *Crit Rev Oncol Hematol*, 36(2-3) :123–139.
- [Nelson et al., 1982] Nelson, J. A., Livingston, G. K., and Moon, R. (1982). Mutagenic evaluation of radiographic contrast media. *Invest Radiol*, 17(2) :183–185.
- [Neshasteh-Riz et al., 1997] Neshasteh-Riz, A., Angerson, W. J., Reeves, J. R., Smith, G., Rampling, R., and Mairs, R. J. (1997). Incorporation of iododeoxyuridine in multicellular glioma spheroids : implications for dna-targeted radiotherapy using auger electron emitters. *Br J Cancer*, 75(4) :493–499.
- [Neshasteh-Riz et al., 1998] Neshasteh-Riz, A., Mairs, R. J., Angerson, W. J., Stanton, P. D., Reeves, J. R., Rampling, R., Owens, J., and Wheldon, T. E. (1998). Differential cytotoxicity of ^{123}I iudr, ^{125}I iudr and ^{131}I iudr to human glioma cells in monolayer or spheroid culture : effect of proliferative heterogeneity and radiation cross-fire. *Br J Cancer*, 77(3) :385–390.
- [Neumann and Nurse, 2007] Neumann, F. R. and Nurse, P. (2007). Nuclear size control in fission yeast. *J Cell Biol*, 179(4) :593–600.
- [Nicholson et al., 2000] Nicholson, C., Chen, K. C., Hrab?tová, S., and Tao, L. (2000). Diffusion of molecules in brain extracellular space : theory and experiment. *Prog Brain Res*, 125 :129–154.
- [Nicholson and Syková, 1998] Nicholson, C. and Syková, E. (1998). Extracellular space structure revealed by diffusion analysis. *Trends Neurosci*, 21(5) :207–215.
- [Nikjoo et al., 2001] Nikjoo, H., O’Neill, P., Wilson, W. E., and Goodhead, D. T. (2001). Computational approach for determining the spectrum of dna damage induced by ionizing radiation. *Radiat Res*, 156(5 Pt 2) :577–583.
- [NIST, 2010] NIST (2010). <http://www.nist.gov/index.html>.
- [Norman et al., 1978a] Norman, A., Adams, F. H., and Riley, R. F. (1978a). Cytogenetic effects of contrast media and triiodobenzoic acid derivatives in human lymphocytes. *Radiology*, 129(1) :199–203.

- [Norman et al., 2001] Norman, A., Cochran, S. T., and Sayre, J. W. (2001). Meta-analysis of increases in micronuclei in peripheral blood lymphocytes after angiography or excretory urography. *Radiat Res*, 155(5) :740–743.
- [Norman et al., 1997] Norman, A., Ingram, M., Skillen, R. G., Freshwater, D. B., Iwamoto, K. S., and Solberg, T. (1997). X-ray phototherapy for canine brain masses. *Radiat Oncol Investig*, 5(1) :8–14.
- [Norman et al., 1991] Norman, A., Iwamoto, K. S., and Cochran, S. T. (1991). Iodinated contrast agents for brain tumor localization and radiation dose enhancement. *Invest Radiol*, 26 Suppl 1 :S120–1 ; discussion S125–8.
- [Norman et al., 1978b] Norman, D., Stevens, E. A., Wing, S. D., Levin, V., and Newton, T. H. (1978b). Quantitative aspects of contrast enhancement in cranial computed tomography. *Radiology*, 129(3) :683–688.
- [Nowotny, 1998] Nowotny, R. (1998). Xmudat : Photon attenuation data on pc. version 1.0.1. online available at <http://www-nds.iaea.org/reports/nds-195.htm>.
- [Olive and Durand, 1994] Olive, P. L. and Durand, R. E. (1994). Drug and radiation resistance in spheroids : cell contact and kinetics. *Cancer Metastasis Rev*, 13(2) :121–138.
- [Painter, 1974] Painter, R. B. (1974). Dna damage and repair in eukaryotic cells. *Genetics*, 78(1) :139–148.
- [Parker and Karon, 1989] Parker, R. G. and Karon, D. (1989). Normal-tissue tolerance of skin, cartilage, and bone. *Front Radiat Ther Oncol*, 23 :215–20 ; discussion 251–4.
- [Pasciuti et al., 2008] Pasciuti, K., Iaccarino, G., Soriani, A., Bruzzaniti, V., Marzi, S., Gomellini, S., Arcangeli, S., Benassi, M., and Landoni, V. (2008). Dvhs evaluation in brain metastases stereotactic radiotherapy treatment plans. *Radiother Oncol*, 87(1) :110–115.
- [Perkins et al., 1991] Perkins, S. T., Chen, D. E. C. M. H., Hubbell, J. H., Rathkopf, J., and Scofield, J. (1991). Tables and graphs of atomic subshell and relaxation data derived from the llnl evaluated atomic data library (eادل), z=1-100. *Lawrence Livermore National Laboratory Publication.*, 30.
- [Pignol et al., 2003] Pignol, J. P., Rakovitch, E., Beachey, D., and Sech, C. L. (2003). Clinical significance of atomic inner shell ionization (isi) and auger cascade for radiosensitization using iudr, budr, platinum salts, or gadolinium porphyrin compounds. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*, 55(4) :1082–1091.
- [Prevost et al., 2008] Prevost, J. B., Voet, P., Hoogeman, M., Praag, J., Levendag, P., and Nuytens, J. J. (2008). Four-dimensional stereotactic radiotherapy for early stage non-small cell lung cancer : a comparative planning study. *Technol Cancer Res Treat*, 7(1) :27–33.
- [Prezado et al., 2009a] Prezado, Y., Fois, G., Edouard, M., Nemoz, C., Renier, M., Requardt, H., Estève, F., Adam, J. F., Elleaume, H., and Bravin, A. (2009a). Biological equivalent dose studies for dose escalation in the stereotactic synchrotron radiation therapy clinical trials. *Med Phys*, 36(3) :725–733.
- [Prezado et al., 2009b] Prezado, Y., Renier, M., and Bravin, A. (2009b). A new method of creating minibeam patterns for synchrotron radiation therapy : a feasibility study. *J Synchrotron Radiat*, 16(Pt 4) :582–586.
- [Ramuz et al., 1997] Ramuz, O., Bourhis, J., and Mornex, F. (1997). [late effects of radiations on mature and growing bone]. *Cancer Radiother*, 1(6) :801–809.

- [Regulla et al., 2001] Regulla, D., Panzer, W., Schmid, E., Stephan, G., and Harder, D. (2001). Detection of elevated rbe in human lymphocytes exposed to secondary electrons released from x-irradiated metal surfaces. *Radiat Res*, 155(5) :744–747.
- [Regulla et al., 2002] Regulla, D., Schmid, E., Friedland, W., Panzer, W., Heinzmann, U., and Harder, D. (2002). Enhanced values of the rbe and h ratio for cytogenetic effects induced by secondary electrons from an x-irradiated gold surface. *Radiat Res*, 158(4) :505–515.
- [Reniers and Verhaegen, 2006] Reniers, B. and Verhaegen, F. (2006). The microdosimetry of low-energy photons in radiotherapy. *Radiat Prot Dosimetry*, 122(1-4) :401–403.
- [Reniers et al., 2004a] Reniers, B., Verhaegen, F., and Vynckier, S. (2004a). The radial dose function of low-energy brachytherapy seeds in different solid phantoms : comparison between calculations with the egsnrc and mcnp4c monte carlo codes and measurements. *Phys Med Biol*, 49(8) :1569–1582.
- [Reniers et al., 2004b] Reniers, B., Vynckier, S., and Verhaegen, F. (2004b). Theoretical analysis of microdosimetric spectra and cluster formation for 103pd and 125i photon emitters. *Phys Med Biol*, 49(16) :3781–3795.
- [report ICRU 36, 1983] report ICRU 36 (1983). *Microdosimetry*.
- [report ICRU 46, 1992] report ICRU 46 (1992). *Photon, electron, proton and neutron interaction data for body tissues*.
- [report ICRU 60, 1998] report ICRU 60 (1998). *Fundamental Quantities and Units for Ionizing Radiation*.
- [Robar, 2006] Robar, J. L. (2006). Generation and modelling of megavoltage photon beams for contrast-enhanced radiation therapy. *Phys Med Biol*, 51(21) :5487–5504.
- [Roos and Schmid, 1998] Roos, H. and Schmid, E. (1998). Analysis of chromosome aberrations in human peripheral lymphocytes induced by 5.4 keV x-rays. *Radiat Environ Biophys*, 36(4) :251–254.
- [Rose et al., 1999] Rose, J. H., Norman, A., Ingram, M., Aoki, C., Solberg, T., and Mesa, A. (1999). First radiotherapy of human metastatic brain tumors delivered by a computerized tomography scanner (ctrx). *Int J Radiat Oncol Biol Phys*, 45(5) :1127–1132.
- [Rossi, 1959] Rossi, H. H. (1959). Specification of radiation quality. *Radiat Res*, 10(5) :522–531.
- [Rossi, 1960] Rossi, H. H. (1960). Spatial distribution of energy deposition by ionizing radiation. *Radiat Res*, Suppl 2 :290–299.
- [Rossi, 1967] Rossi, H. H. (1967). Energy distribution in the absorption of radiation. *Adv Biol Med Phys*, 11 :27–85.
- [Rossi, 1979] Rossi, H. H. (1979). The role of microdosimetry in radiobiology. *Radiat Environ Biophys*, 17(1) :29–40.
- [Rossi and Zaider, 1991] Rossi, H. H. and Zaider, M. (1991). Elements of microdosimetry. *Med Phys*, 18(6) :1085–1092.
- [Rothkamm and Löbrich, 2003] Rothkamm, K. and Löbrich, M. (2003). Evidence for a lack of dna double-strand break repair in human cells exposed to very low x-ray doses. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 100(9) :5057–5062.
- [Rousseau et al., 2009a] Rousseau, J., Adam, J. F., Deman, P., Wu, T. D., Guerquin-Kern, J. L., Gouget, B., Barth, R. F., Estève, F., and Elleaume, H. (2009a). Intracerebral delivery of 5-iodo-2'-deoxyuridine in combination with synchrotron stereotactic radiation for the therapy of the f98 glioma. *J Synchrotron Radiat*, 16(Pt 4) :573–581.

- [Rousseau et al., 2009b] Rousseau, J., Barth, R., Moeschberger, M., and Elleaume, H. (2009b). Efficacy of intracerebral delivery of carboplatin in combination with photon irradiation for treatment of f98 glioma-bearing rats. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*, 73(2) :530–536.
- [Rousseau et al., 2009c] Rousseau, J., Barth, R. F., Fernandez, M., Adam, J. F., Balosso, J., Estève, F., and Elleaume, H. (2009c). Efficacy of intracerebral delivery of cisplatin in combination with photon irradiation for treatment of brain tumors. *J Neurooncol*.
- [Rousseau et al., 2007a] Rousseau, J., Boudou, C., Barth, R. F., Balosso, J., Estève, F., and Elleaume, H. (2007a). Enhanced survival and cure of f98 glioma-bearing rats following intracerebral delivery of carboplatin in combination with photon irradiation. *Clin Cancer Res*, 13(17) :5195–5201.
- [Rousseau et al., 2007b] Rousseau, J., Boudou, C., Estève, F., and Elleaume, H. (2007b). Convection-enhanced delivery of an iodine tracer into rat brain for synchrotron stereotactic radiotherapy. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*, 68(3) :943–951.
- [Rudd et al., 1985] Rudd, Itoh, and Goffe (1985). Cross sections for ionization, capture, and loss for 5-450-keV He⁺ on water vapor. *Phys Rev A*, 32(4) :2499–2500.
- [Sachs and Brenner, 1998] Sachs, R. K. and Brenner, D. J. (1998). The mechanistic basis of the linear-quadratic formalism. *Med Phys*, 25(10) :2071–2073.
- [Salvat et al., 2009] Salvat, F., Fernandez-Varea, J., and Sempau, J. (2009). *PENELOPE-2008 : A code system for Monte Carlo Simulation of Electron and Photon Transport*. nuclear energy agency.
- [Sasaki et al., 1989] Sasaki, M. S., Kobayashi, K., Hieda, K., Yamada, T., Ejima, Y., Maezawa, H., Furusawa, Y., Ito, T., and Okada, S. (1989). Induction of chromosome aberrations in human lymphocytes by monochromatic x-rays of quantum energy between 4.8 and 14.6 keV. *Int J Radiat Biol*, 56(6) :975–988.
- [Schettino et al., 2010] Schettino, G., Al-Rashid, S. T., and Prise, K. M. (2010). Radiation microbeams as spatial and temporal probes of subcellular and tissue response. *Mutat Res*.
- [Schmid et al., 1984] Schmid, E., Bauchinger, M., Streng, S., and Nahrstedt, U. (1984). The effect of 220 kVp x-rays with different spectra on the dose response of chromosome aberrations in human lymphocytes. *Radiat Environ Biophys*, 23(4) :305–309.
- [Schmid et al., 2002] Schmid, E., Regulla, D., Kramer, H.-M., and Harder, D. (2002). The effect of 29 kV x rays on the dose response of chromosome aberrations in human lymphocytes. *Radiat Res*, 158(6) :771–777.
- [Schmid et al., 1980] Schmid, R. P., Bauchinger, M., Streng, E., and Narsted, U. (1980). Chromosome aberrations induced in human lymphocytes by ultrasoft Al K and C x-rays. *Int J Radiat Biol*, 38 :545–557.
- [Schulte et al., 2003] Schulte, R., Bashkirov, V., Garty, G., Leloup, C., Shchemelinin, S., Breskin, A., Chechik, R., Milligan, J., and Grosswendt, B. (2003). Ion-counting nanodosimetry : current status and future applications. *Australas Phys Eng Sci Med*, 26(4) :149–155.
- [Scott, 1963] Scott, W. T. (1963). *Rev. Mod. Phys.*, 35 :231.
- [Semenenko and Stewart, 2005] Semenenko, V. A. and Stewart, R. D. (2005). Monte Carlo simulation of base and nucleotide excision repair of clustered DNA damage sites. ii. comparisons of model predictions to measured data. *Radiat Res*, 164(2) :194–201.
- [Semenenko et al., 2005] Semenenko, V. A., Stewart, R. D., and Ackerman, E. J. (2005). Monte Carlo simulation of base and nucleotide excision repair of clustered DNA damage sites. i. model properties and predicted trends. *Radiat Res*, 164(2) :180–193.

- [Serduc et al., 2010] Serduc, R., Bräuer-Krisch, E., Siegbahn, E., Bouchet, A., Pouyatos, B., Carron, R., Pannetier, N., Renaud, L., Berruyer, G., Nemoz, C., Brochard, T., Rémy, C., Barbier, E. L., Bravin, A., Duc, G. L., Depaulis, A., Estève, F., and Laissue, J. A. (2010). High-precision radiosurgical dose delivery by interlaced microbeam arrays of high-flux low-energy synchrotron x-rays. *PLoS One*, 5(2) :e9028.
- [Shchemelinin et al., 1999] Shchemelinin, S., Breskin, A., Chechik, R., Colautti, P., and Schulte, R. W. M. (1999). First measurements of ionisation clusters on the dna scale in a wall-less sensitive volume. *Radiation Protection Dosimetry*, 82 :43–50.
- [Sminia et al., 2003] Sminia, P., Acker, H., Eikesdal, H. P., Kaaijk, P., øvind Enger, P., Slotman, B., and Bjerkgvig, R. (2003). Oxygenation and response to irradiation of organotypic multicellular spheroids of human glioma. *Anticancer Res*, 23(2B) :1461–1466.
- [Sánchez-Reyes, 1992] Sánchez-Reyes, A. (1992). A simple model of radiation action in cells based on a repair saturation mechanism. *Radiat Res*, 130(2) :139–147.
- [Solberg et al., 1992] Solberg, T. D., Iwamoto, K. S., and Norman, A. (1992). Calculation of radiation dose enhancement factors for dose enhancement therapy of brain tumours. *Phys Med Biol*, 37(2) :439–443.
- [Sonis et al., 1990] Sonis, A. L., Tarbell, N., Valachovic, R. W., Gelber, R., Schwenn, M., and Sallan, S. (1990). Dentofacial development in long-term survivors of acute lymphoblastic leukemia. a comparison of three treatment modalities. *Cancer*, 66(12) :2645–2652.
- [Stupp et al., 2007] Stupp, R., Hegi, M. E., Gilbert, M. R., and Chakravarti, A. (2007). Chemoradiotherapy in malignant glioma : standard of care and future directions. *J Clin Oncol*, 25(26) :4127–4136.
- [Stupp et al., 2009] Stupp, R., Hegi, M. E., Mason, W. P., van den Bent, M. J., Taphoorn, M. J. B., Janzer, R. C., Ludwin, S. K., Allgeier, A., Fisher, B., Belanger, K., Hau, P., Brandes, A. A., Gijtenbeek, J., Marosi, C., Vecht, C. J., Mokhtari, K., Wesseling, P., Villa, S., Eisenhauer, E., Gorlia, T., Weller, M., Lacombe, D., Cairncross, J. G., Mirimanoff, R. O., for Research, E. O., of Cancer Brain Tumour, T., Groups, R. O., and of Canada Clinical Trials Group, N. C. I. (2009). Effects of radiotherapy with concomitant and adjuvant temozolomide versus radiotherapy alone on survival in glioblastoma in a randomised phase iii study : 5-year analysis of the eortc-ncic trial. *Lancet Oncol*, 10(5) :459–466.
- [Taylor et al., 1988] Taylor, J. M., Withers, H. R., and Hu, Z. (1988). A comparison of mathematical models for regeneration in acutely responding tissues. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*, 15(6) :1389–1400.
- [Thomlinson and Gray, 1955] Thomlinson, R. H. and Gray, L. H. (1955). The histological structure of some human lung cancers and the possible implications for radiotherapy. *Br J Cancer*, 9(4) :539–549.
- [Tjarks et al., 2001] Tjarks, W., Wang, J., Chandra, S., Ji, W., Zhuo, J., Lunato, A., Boyer, C., Li, Q., Usova, E., Eriksson, S., Morrison, G. H., and Cosquer, G. Y. (2001). Synthesis and biological evaluation of boronated nucleosides for boron neutron capture therapy (bnct) of cancer. *Nucleosides Nucleotides Nucleic Acids*, 20(4-7) :695–698.
- [Travis et al., 1983] Travis, E. L., Parkins, C. S., Down, J. D., Fowler, J. F., and Maughan, R. L. (1983). Is there a loss of repair capacity in mouse lungs with increasing numbers of dose fractions? *Int J Radiat Oncol Biol Phys*, 9(5) :691–699.

- [Troger et al., 1991] Troger, V., Francois, E., Frenay, M., Namer, M., and Milano, G. (1991). Analysis of tissue platinum distribution in patients with cancer of the oesophagus. *Eur J Cancer*, 27(3) :256–259.
- [Truskey et al., 2007] Truskey, G. A., Yuan, F., and Katz, D. F. (2007). *Transport Phenomena in Biological Systems*.
- [van Rij et al., 2005] van Rij, C. M., Wilhelm, A. J., Sauerwein, W. A. G., and van Loenen, A. C. (2005). Boron neutron capture therapy for glioblastoma multiforme. *Pharm World Sci*, 27(2) :92–95.
- [Vargová et al., 2003] Vargová, L., Homola, A., Zámečník, J., Tichý, M., Benes, V., and Syková, E. (2003). Diffusion parameters of the extracellular space in human gliomas. *Glia*, 42(1) :77–88.
- [Verhaegen and Castellano, 2002] Verhaegen, F. and Castellano, I. A. (2002). Microdosimetric characterisation of 28 kvp mo/mo, rh/rh, rh/al, w/rh and mo/rh mammography x ray spectra. *Radiat Prot Dosimetry*, 99(1-4) :393–396.
- [Verhaegen et al., 2005] Verhaegen, F., Reniers, B., Deblois, F., Devic, S., Seuntjens, J., and Hristov, D. (2005). Dosimetric and microdosimetric study of contrast-enhanced radiotherapy with kilovolt x-rays. *Phys Med Biol*, 50(15) :3555–3569.
- [Verhaegen and Seuntjens, 1994] Verhaegen, F. and Seuntjens, J. (1994). Dose conversion factors and linear energy transfer for irradiation of thin blood layers with low-energy x rays. *Radiat Res*, 137(1) :11–17.
- [Verhaegen and Seuntjens, 1995] Verhaegen, F. and Seuntjens, J. (1995). Monte carlo study of electron spectra and dose from backscattered radiation in the vicinity of media interfaces for monoenergetic photons of 50-1250 kev. *Radiat Res*, 143(3) :334–342.
- [Vilches et al., 2008] Vilches, M., García-Pareja, S., Guerrero, R., Anguiano, M., and Lalena, A. M. (2008). Effect of the multiple scattering of electrons in monte carlo simulation of linacs. *Radiother Oncol*, 86(1) :104–108.
- [Vilches et al., 2007] Vilches, M., Garcia-Pareja, S., Guerrero, R., Anguiano, M., and Lalena, A. M. (2007). Effect of the electron transport through thin slabs on the simulation of linear electron accelerators of use in therapy : A comparative study of various monte carlo codes. *Nucl Instrum Methods in Phys Res A*, 580 :153–156.
- [Wen and Kesari, 2008] Wen, P. Y. and Kesari, S. (2008). Malignant gliomas in adults. *N Engl J Med*, 359(5) :492–507.
- [Wilimas et al., 1980] Wilimas, J., Thompson, E., and Smith, K. L. (1980). Long-term results of treatment of children and adolescents with hodgkin’s disease. *Cancer*, 46(10) :2123–2125.
- [Wittig et al., 2008] Wittig, A., Michel, J., Moss, R. L., Stecher-Rasmussen, F., Arlinghaus, H. F., Bendel, P., Mauri, P. L., Altieri, S., Hilger, R., Salvadori, P. A., Menichetti, L., Zamenhof, R., and Sauerwein, W. A. G. (2008). Boron analysis and boron imaging in biological materials for boron neutron capture therapy (bnct). *Crit Rev Oncol Hematol*, 68(1) :66–90.
- [Wuu et al., 1992] Wu, C. S., Amols, H., Kliauga, P., Reinstein, L., and Saraf, S. (1992). Microdosimetry for boron neutron capture therapy. *Radiat Res*, 130(3) :355–359.
- [Wuu et al., 1996] Wu, C. S., Kliauga, P., Zaider, M., and Amols, H. I. (1996). Microdosimetric evaluation of relative biological effectiveness for 103pd, 125i, 241am, and 192ir brachytherapy sources. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*, 36(3) :689–697.
- [Wuu and Zaider, 1998] Wu, C. S. and Zaider, M. (1998). A calculation of the relative biological effectiveness of 125i and 103pd brachytherapy sources using the concept of proximity function. *Med Phys*, 25(11) :2186–2189.

[Zaider, 1998] Zaider, M. (1998). There is no mechanistic basis for the use of the linear-quadratic expression in cellular survival analysis. *Med Phys*, 25(5) :791–792.

Annexes

Annexe A

Compléments du rapport

A.1 Code MCNPX, définition des cellules via les univers

cube voxelise (10×10 × 10voxels) contenant des spheres de 10 microns de diametre dans le tube utilise dans le set-up experimental

c VOLUMES :

1 0 100 IMP :p,e=0 \$ correspond au volume "1", au vide, ou l'on ne suivra pas les differentes particules, a l'exterieur de la sphere "100"

2 20 -0.001205 -100 #3 #4 #10 #11 IMP :p,e=1 \$ correspond a l'air autour du tube

3 30 -1.0 -303 -304 305 #4 IMP :p,e=1 \$ cryotube, contenant de l'eau, densite 1.0 correspondant au materiau "30"

c Parois du tube :

10 90 -0.93 -300 303 -301 302 IMP :p,e=1

11 90 -0.93 -303 -306 304 IMP :p,e=1

12 90 -0.93 301 -305 -303 IMP :p,e=1

c Definition du reseau :

4 0 -400 fill=5 (-0.0005 -0.0005 -0.0005) IMP :p,e=1 \$ cube voxelise defini par la surface "400", coordonnees de depart du reseau : (-0.0005 -0.0005 -0.0005), remplit par l'univers 5.

5 0 -500 u=5 lat=1 IMP :p,e=1 & \$ definition de l'univers 5 (u=5), comme etant un reseau de parallepipede (lat=1) de voxels definis par la surface "500"

fill=0 :9 0 :9 0 :9 & \$ reseau de 10×10 × 10voxels

6 999R \$ les reseau est remplit de l'univers 6 1000 fois

c Definition de l'univers 6 :

6 40 -1.0 -600 u=6 IMP :p,e=1 \$ cellule defini par la surface "600", remplit d'eau (densite 1.0, materiau "40")

8 40 -1.0 600 u=6 IMP :p,e=1 u=6 \$ milieu extracellulaire se situant a l'exterieur de la surface "600" et a l'interieur du voxel

c SURFACES

100 so 30 \$sphere centree de 30cm de rayon definissant le volume d'etude, a l'exterieur se trouve le vide

c Surfaces permettant de definir le tube :

300 CZ 0.625

301 PZ 2.4

302 PZ -2.4

303 CZ 0.55

304 PZ 1.4

```

306 PZ 1.475
305 PZ -2.325
c Surfaces du reseau, voxel, cellules :
400 rpp -0.0005 0.0005 -0.0005 0.0005 -0.0005 0.0005 $ Coordonnees du volume vox-
lise
500 rpp 0.0 0.001 0.0 0.001 0.0 0.001 $ Dimension du voxel
600 s 0.0005 0.0005 0.0005 0.0005 $ Coordonnee de la cellule dans le voxel
c
c Definitions des materiaux.....
....
c Definition de la source....
.....
c Tally :
*f8 :p,e (6<5[0 :9 0 :9 0 :9]) $ tally *f8 utilisé (calcul de l'énergie déposée en
MeV/photon), dans les volumes "6" (cellules) du réseau de 10×10 × 10 voxels défini dans
le volume "5".
c Nombre de particules simulées...
...

```

A.2 Démonstration de l'équation de Kellerer-Chmelevsky

Pour aider à la compréhension des calculs, sont représentés figure A.1 une trace ainsi que les différentes variables utilisées pour la démonstration.

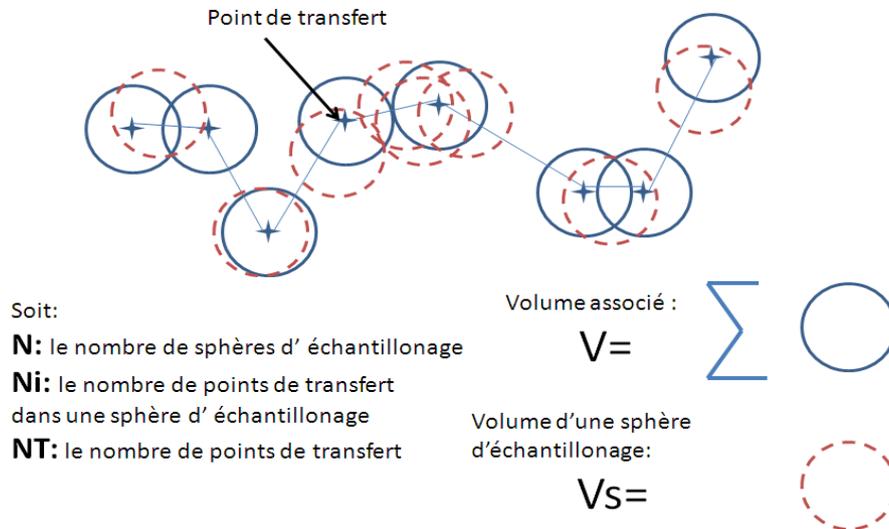


Figure A.1 – Représentation schématique d'une trace et des variables utilisées pour la démonstration de l'équation de Kellerer-Chmelevsky.

Si on considère une seule trajectoire représentative de la radiation considérée et que l'on place N sphères aléatoirement dans le volume associé à la trajectoire. Si N est suffisamment grand, on peut calculer \bar{z}_D comme suit :

$$\bar{z}_{1D} = \frac{\bar{z}_{1F}^2}{\bar{z}_{1F}} = \frac{1/N \cdot \sum_{i=1}^N z_i^2}{1/N \cdot \sum_{i=1}^N z_i} = \frac{\sum_{i=1}^N z_i^2}{\sum_{i=1}^N z_i}$$

avec z_i , l'énergie spécifique déposée dans chaque volume d'échantillonnage.

On a,

$$z_i = \frac{1}{m} \sum_{k=1}^{N_i} \epsilon_k$$

avec N_i , le nombre de points de transfert dans une sphère d'échantillonnage.
d'où,

$$z_{1D}^- = \frac{\sum_{i=1}^N z_i^2}{\sum_{i=1}^N z_i} = \frac{1}{m} \cdot \frac{\sum_{i=1}^N \left[\sum_{j=1}^{N_i} \epsilon_j \sum_{k=1}^{N_i} \epsilon_k \right]}{\sum_{i=1}^N \left[\sum_{l=1}^{N_i} \epsilon_l \right]} \quad (\text{A.1})$$

Les sphères d'échantillonnage étant disposées au hasard, elles peuvent se recouper et par conséquent un point de transfert donné peut se retrouver à l'intérieur de plus d'une sphère d'échantillonnage. Si chaque sphère d'échantillonnage a un volume V_s , alors le volume total des sphères d'échantillonnage est NV_s . Ce volume est plus grand que le volume associé de la trajectoire V . En moyenne, le nombre de points de transfert par sphère d'échantillonnage est le rapport : $N \cdot \frac{V_s}{V}$.

Considérons le dénominateur de l'équation A.1. chaque terme ϵ_l , représentant un point de transfert, apparaîtra plusieurs fois à cause du recouvrement des sphères d'échantillonnage. En moyenne, il apparaîtra $N \cdot \frac{V_s}{V}$.

On peut donc faire l'approximation suivante , avec N_T le nombre de points de transfert :

$$\sum_{i=1}^N \left[\sum_{l=1}^{N_i} \epsilon_l \right] = \sum_{k=1}^{N_T} \left[\frac{N \cdot V_s}{V} \cdot \right] \epsilon_k$$

Cette approximation permet de passer d'une double sommation à une simple sommation sur l'ensemble des points de transfert de la trajectoire, mais en pondérant chacune des énergies par un taux réel d'apparition ($N \cdot \frac{V_s}{V}$).

Pour simplifier le numérateur de l'équation A.1, on reformule la somme des produits des points de transferts de chaque sphère d'échantillonnage en une somme sur tous les couples de points de transfert pondérée par une probabilité d'apparition de deux points dans une même sphère suivant la distance les séparant.

On a donc,

$$\sum_{i=1}^N \times \left[\sum_{j=1}^{N_i} \epsilon_j \sum_{k=1}^{N_i} \epsilon_k \right] = \sum_{j=1}^{N_T} \sum_{k=1}^{N_T} \epsilon_j \epsilon_k \cdot f_{jk}$$

avec N_T le nombre total de points de transfert et f_{jk} , la fréquence d'apparition du couple ϵ_j, ϵ_k .

Pour calculer la fréquence d'apparition f_{jk} , on utilise le volume d'intersection V_1 entre les deux sphères séparées par une distance x (qui représente la distance entre les 2 points ϵ_j et ϵ_k) . On peut montrer que ce volume est donné par l'expression :

$$V_1 = V_s \cdot \left(1 - \frac{3x}{2d} + \frac{x^3}{2d^3} \right)$$

avec V_s le volume d'une sphère.

Le volume V_1 varie sur une plage contenue entre 0 et V_s . On peut faire l'hypothèse que, en moyenne, chaque couple de points de transfert ϵ_j et ϵ_k apparaîtra dans un nombre $N \cdot \frac{V_1}{V}$ sphères d'échantillonnage, et donc le même nombre de fois dans la somme. Donc la fréquence d'apparition f_{jk} est égale à $N \cdot \frac{V_1}{V}$. En multipliant l'expression précédente par

N/V , on obtient la proportion d'occurrence de points de transfert j et k par une distance x_{jk} :

$$f_{jk} = \frac{NV_1}{V} = \frac{NV_S}{V} \times \left(1 - \frac{3x}{2d} + \frac{x^3}{2d^3}\right)$$

On obtient donc pour l'équation A.1 :

$$z_{1D}^- = \frac{1}{m} \cdot \frac{\sum_{j=1}^{N_T} \sum_{k=1}^{N_T} \epsilon_j \epsilon_k \cdot \left(1 - \frac{3x}{2d} + \frac{x^3}{2d^3}\right)}{\sum_{k=1}^{N_T} \epsilon_k}$$

On peut reformuler cette expression d'une manière légèrement différente. Le numérateur est écrit sous la forme d'une sommation sur des paires de points. Si on l'exprime plutôt en fonction de la distance x_{jk} qui sépare deux points de transfert j et k :

$$z_{1D}^- = \frac{1}{m} \cdot \sum_x u(x) \cdot \left[\frac{\sum_{(j,k) \in [x, x+dx]} \epsilon_j \epsilon_k}{\sum_{k=1}^{N_T} \epsilon_k} \right]$$

avec

$$u(x) = \left(1 - \frac{3x}{2d} + \frac{x^3}{2d^3}\right)$$

Finalement, si l'on définit le terme entre crochets comme étant $t(x)$, et si l'on passe de discret à continu (i.e. de sommation à intégrale), on obtient :

$$z_{1D}^- = \frac{1}{m} \cdot \int_{x=0}^d u(x) \cdot t(x) \cdot dx$$

qui est l'équation de Kellerer-Chmelevsky.

A.3 Comparaison de deux codes de simulation Monte Carlo, MCNPX et PENELOPE

L'approche microdosimétrique se situe aux limites des codes Monte Carlo tel que MCNPX. C'est pourquoi, dans un premier temps, nous avons comparé deux codes (MCNPX et PENELOPE) dans les conditions de l'étude. PENELOPE (PENetration & Energy LOss of Positrons & Electrons in matter) est un code Monte Carlo de transport des photons et électrons dans n'importe quel matériau et à des énergies allant de quelques centaines d'eV à 1GeV, adapté aux applications médicales.

A.3.1 Détails des bibliothèques et transport des électrons pour MCNPX et PENELOPE

Le code MCNPX utilise la bibliothèque ENDF/B-VI [Cullen et al., 1997, Cullen et al., 1989]. Les données sont disponibles sur le site de l'IAEA. Pour PENELOPE, les données sont accessibles pour tous les éléments sous forme de fichiers ASCII. Le fichier nommé "pdg-phZZ.p06" est celui indiquant les sections efficaces totales d'effet photoélectrique. Ces données sont extraites de la bibliothèque EPDL [Cullen et al., 1997]. Les bibliothèques ENDF/B-VI (MCNPX) et EPDL (PENELOPE) proviennent des mêmes données originales. Ces bibliothèques contiennent les sections efficaces d'interactions de photons pour tous les éléments atomiques allant de $Z=1$ (hydrogène) à $Z=100$ (fermions), soit : photoionisation, photoexcitation, diffusion cohérente et incohérente et section efficaces de la création de

paires et de triplets. L'utilisation de ces données est conçue pour des énergies allant de 1eV à 100GeV. Même si les données vont jusqu'à 1eV, il faut être prudent dans leur utilisation car elles ont été étendues de 50eV à 1eV pour pouvoir décrire complètement la photoionisation mais comportent une incertitude relativement importante. Les sections efficaces sont bien décrites (incertitude estimée largement $< 5\%$) jusqu'à 1keV et 500eV pour des atomes en état solide et gazeux respectivement.

La différence entre les deux codes Monte Carlo réside dans la manière d'interpoler les valeurs de section efficace entre les valeurs tabulées. Le code PENELOPE utilise une interpolation cubique ("Natural cubic spline log-log interpolation"), excepté pour les interactions photoélectriques et coefficients d'atténuation de Rayleigh où l'interpolation est linéaire ("simple linear log-log interpolation") [Salvat et al., 2009]. Pour la librairie ENDF/B-VI (utilisée par MCNPX), une interpolation linéaire en énergie et section efficace est utilisée. le calcul est effectué à une énergie donnée, pour chaque section efficace, puis sommé pour un matériau composé. C'est donc l'interpolation des données qui peuvent introduire des différences significatives entre le format ENDL et ENDF/B-VI [Cullen et al., 1997].

L'origine la plus probable de différences entre les deux codes est, en fait, le transport des électrons. En effet, pour simuler le transport des photons et des électrons dans une géométrie complexe, on ne peut faire des simulations dites "analogues" où l'on simule le transport individuel de chaque électron. Pour transporter les électrons, on utilise une méthode dite "de parcours condensé" ("condensed history") qui regroupe un certain nombre d'interactions [Berger, 1963]. La différence entre les codes Monte Carlo se situe dans la théorie du diffusé multiple utilisée (détermine la distribution angulaire des électrons) [Vilches et al., 2008, Vilches et al., 2007, Scott, 1963] ainsi que dans l'approximation du ralentissement continue (perte d'énergie). Malgré le nombre de modèles développés, aucun n'est à ce jour suffisamment précis [Scott, 1963].

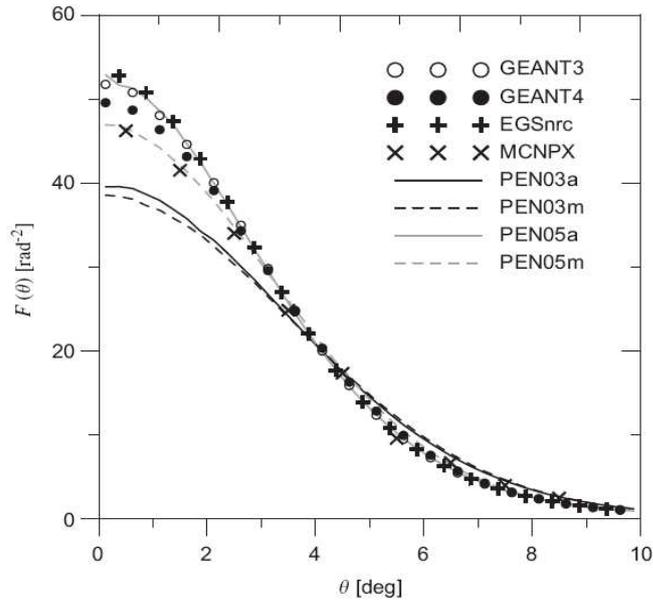
Différents travaux de Vilches et al proposent de comparer le transport des électrons simulés par différents codes (PENELOPE 2003, PENELOPE 2005, GEANT4, GEANT3, EGSnrc et MCNPX) [Vilches et al., 2008, Vilches et al., 2007]. Leur thématique de recherche se porte notamment sur l'effet du modèle de diffusé des électrons au niveau de la simulation d'un faisceau d'électron utilisé en radiothérapie (LINAC). Ils s'intéressent plus particulièrement à leurs réponses dans des volumes où peu d'interactions ont lieu (zone d'air, filtre fin d'élément lourd). La distribution angulaire d'un faisceau d'électron de 6MeV simulé avec les différents codes est représentée figure A.2a. On peut ainsi voir les larges différences obtenues, en particulier aux petits angles. Sur la figure A.2b sont comparés les résultats des angles θ obtenus par simulation et expérimentalement et pour lesquels la distribution angulaire a diminué de $1/e$, pour différentes énergies et matériaux traversés. On voit clairement que les codes répondent différemment. Par exemple, figure A.2b, pour le faisceau de 2.25MeV, MCNPX sous estime l'angle de diffusion par rapport à PENELOPE 05 pour de l'or, et inversement pour du Plomb. Les codes répondent donc différemment selon l'élément lourd considéré.

A.3.2 Géométrie utilisée et paramètres d'irradiation

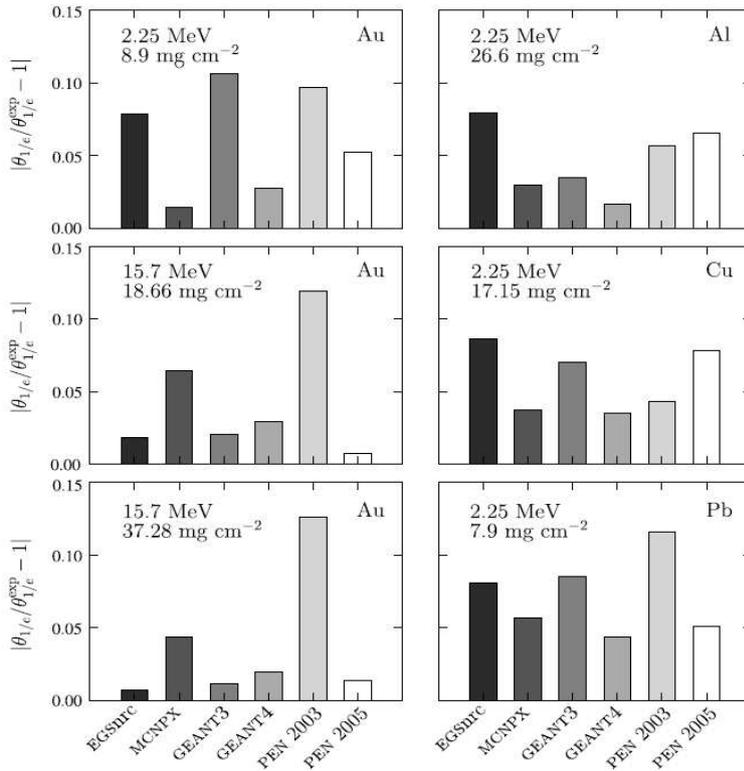
Pour comparer les deux codes, nous avons utilisé la géométrie décrite ci-dessous.

Il s'agit , ici, d'irradier un réseau de $10 \times 10 \times 10$ cellules sphériques de $10 \mu m$ de diamètre avec un faisceau de $300 \times 300 \mu m^2$ de 80keV et dans une seule incidence. Le réseau est placé dans un tube contenant de l'eau iodée ou non (pour plus de détails, cf section 6.3).

Les simulations nécessaires pour calculer les facteurs d'augmentation en énergie, FAEh



(a) Distributions angulaire obtenues pour un faisceau d'électrons de 6MeV .



(b) Rapport $(\frac{\theta_{1/e, sim}}{\theta_{1/e, exp}} - 1)$ obtenus pour différents codes, énergies et matériaux.

Figure A.2 – Comparaison de différents codes Monte Carlo vis à vis du transport des électrons [Vilches et al., 2008, Vilches et al., 2007].

(distribution homogène de l'iode) et FAEp (en prenant en compte la micro-distribution de l'iode) ont été réalisés, soit les trois conditions suivantes :

- 0mg/mL d'iode dans les cellules, l'espace interstitiel et le tube (Cas A), noté (0 | 0 | 0).
- 10 mg/mL d'iode dans les cellules, l'espace interstitiel et le tube (pour le calcul du FAEh, cas B), noté (10 | 10 | 10).
- 0mg/mL dans les cellules, 20.83mg/mL dans l'espace interstitiel et 10 mg/mL d'iode dans le tube (pour le calcul du FAEp, cas C), noté (0 | 20.83 | 10).

De plus, l'énergie déposée dans les cellules est comparée à celle déposée dans le réseau voxélisé (sans cellules) et enfin dans le même volume mais non voxélisé (comme expliqué figure 6.7 partie 6.2.3).

A.3.3 Résultats

Pour comparer les résultats obtenus avec MCNPX et PENELOPE, on calcule la différence relative entre les deux comme suit :

Différence relative = $\frac{E_{PENELOPE} - E_{MCNPX}}{E_{PENELOPE}} \times 100$, avec $E_{PENELOPE}$, l'énergie calculée avec le code PENELOPE et E_{MCNPX} , l'énergie calculée avec MCNPX.

Les résultats de la comparaison des énergies déposées dans le volume non-voxélisé, voxélisé et voxélisé contenant des cellules, ainsi que les résultats comparant les FAEh et FAEp sont détaillés tableaux A.1 et A.2.

	MCNPX (MeV/photon)	PENELOPE (MeV/photon)	Différence relative (%)
Volume non voxélisé	$(7.51 \pm 0.40) \times 10^{-7}$	$(7.450 \pm 0.12) \times 10^{-7}$	- 0.8%
Volume voxélisé (10×10 × 10 voxels)	$(7.44 \pm 0.02) \times 10^{-7}$	$(7.44 \pm 0.09) \times 10^{-7}$	0.02%
Volume voxélisé, contenant des cellules	$(7.50 \pm 0.04) \times 10^{-7}$	$(7.55 \pm 0.04) \times 10^{-7}$	0.7%

Tableau A.1 – Comparaison des énergies calculées dans un volume voxélisé ou non par un réseau de $10 \times 10 \times 10$ voxels avec les codes MCNPX et PENELOPE. Les énergies indiquées pour les deux réseaux sont la somme des énergies déposées dans les voxels pour le volume voxélisé et pondéré par le rapport $\frac{V_{voxe}}{V_{cellule}}$ pour la somme des énergies déposées dans les cellules (cf section 6.2.3).

	Energie déposée dans les cellules (MeV/photon)		Différence relative (%)
	MCNPX	PENELOPE	
Cas A, (0 0 0)	$(3.92 \pm 0.02) \times 10^{-7}$	$(3.95 \pm 0.02) \times 10^{-7}$	0.7%
Cas B, (10 10 10)	$(7.62 \pm 0.03) \times 10^{-7}$	$(7.41 \pm 0.03) \times 10^{-7}$	-2.7 %
Cas C, (0 20.83 10)	$(7.24 \pm 0.03) \times 10^{-7}$	$(6.97 \pm 0.03) \times 10^{-7}$	-3.8 %
FAEh $\frac{(10 10 10)}{(0 0 0)}$	1.94±0.01	1.88±0.01	-3.4%
FAEp $\frac{(0 20.83 10)}{(0 0 0)}$	1.84±0.01	1.77±0.01	-4.4%

Tableau A.2 – Comparaison des énergies déposées dans les cellules, calculées avec MCNPX et PENELOPE, suivant la distribution en iode dans le réseau de $10 \times 10 \times 10$ voxels (pas d'iode, 10 mg/mL dans les cellules, tube et milieu extracellulaire et 10 mg/mL dans le tube, 20.83 mg/mL dans l'espace extracellulaire et 0 mg/mL dans les cellules) ainsi que des facteurs d'augmentation en énergie calculés à partir de ces valeurs.

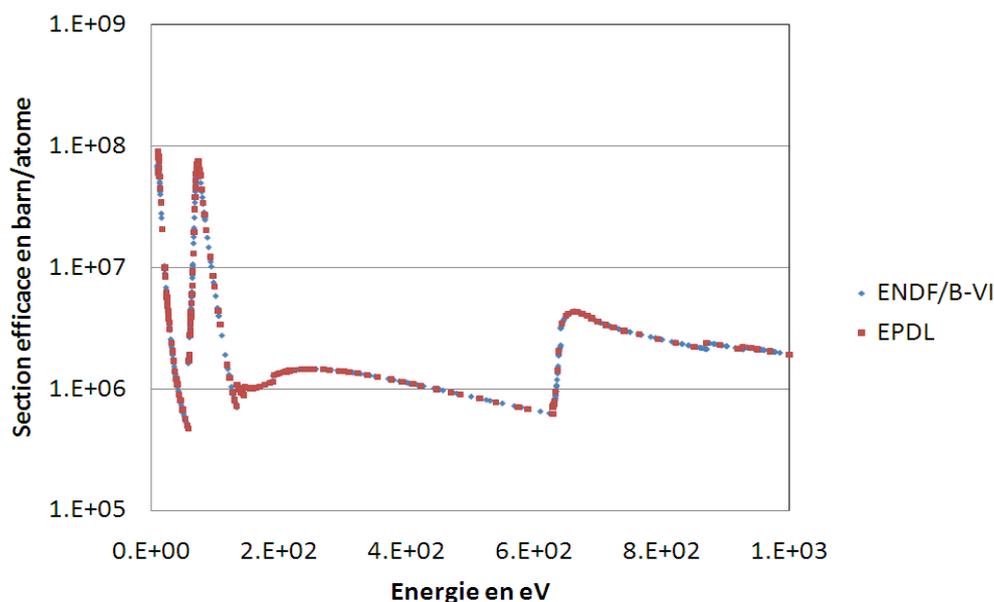


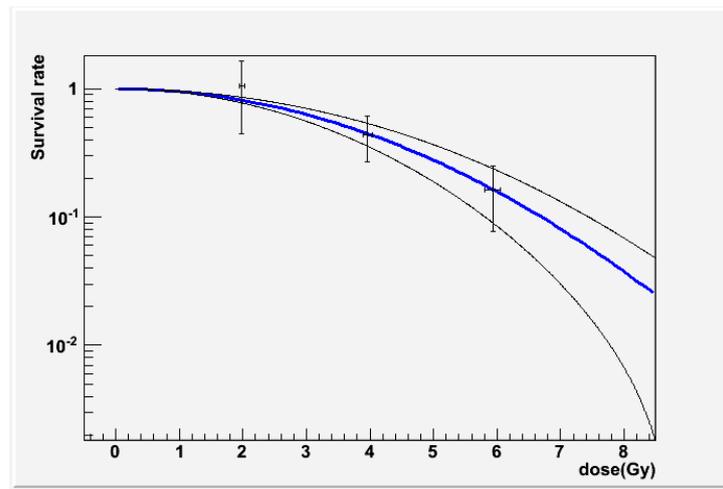
Figure A.3 – Section efficaces photoélectriques totales de l’iode ($Z=53$) utilisées dans les codes MCNPX v2.6e et PENELOPE (de 0 à 10keV).

Tous les résultats obtenus sans iode concordent et présentent une différence relative entre les deux codes inférieure à 1%. En présence d’iode, les différences relatives obtenues sont supérieures à 1% et atteignent 4.4% pour le calcul du FAEP. Ces différences relatives sont toutes négatives, ce qui veut dire que l’estimation de l’augmentation de l’énergie déposée en présence d’iode est plus élevée avec MCNPX qu’avec PENELOPE.

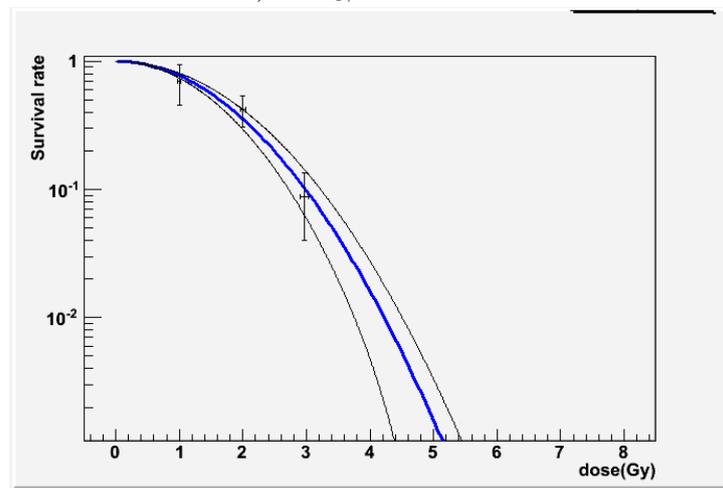
Les sections efficaces photoélectriques de l’iode utilisées dans les deux codes (cf figure A.3) sont identiques, comme expliqué précédemment. Les différences résident dans l’interpolation des données ainsi que dans le transport des électrons.

Les différences significatives obtenues entre les deux codes sont en présence d’éléments lourds, d’iode. Cette observation, combinée aux résultats de Vilches *et al.* montrant des différences entre différents codes dont PENELOPE et MCNPX en présence d’éléments lourds, suggèrent que l’origine de ces différences d’énergies déposées en présence d’iode est due au modèle de “parcours condensé” utilisé. Ceci souligne encore une fois l’importance d’étudier les valeurs relatives et non absolues.

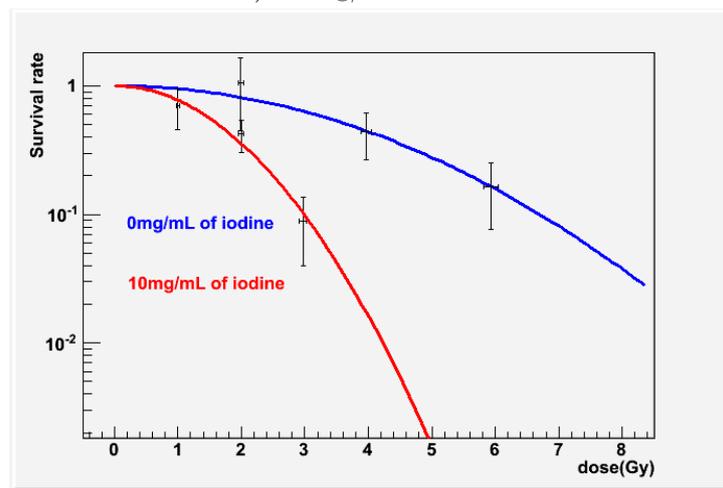
A.4 Détail des courbes de survie cellulaire



a) 0 mg/mL d'iode

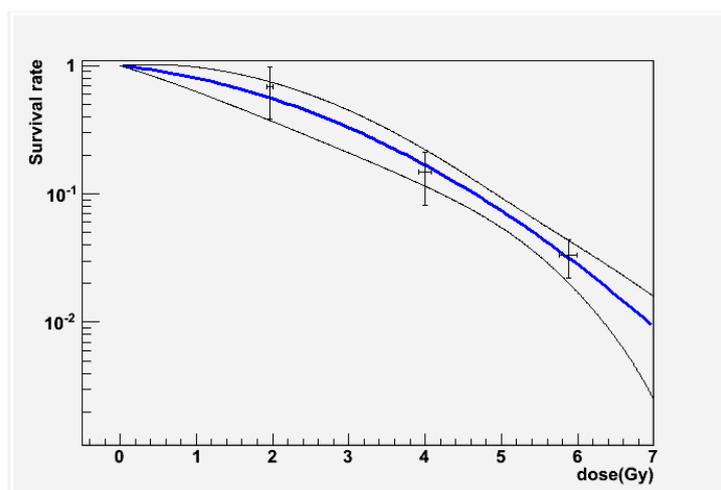


b) 10 mg/mL d'iode

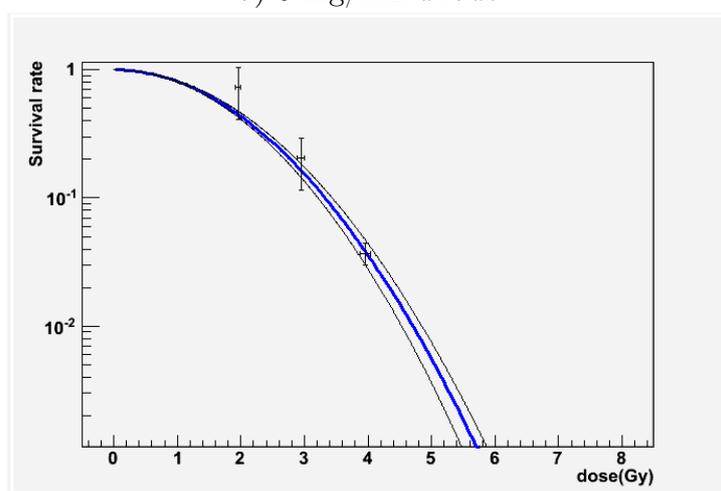


c) Superposition des courbes

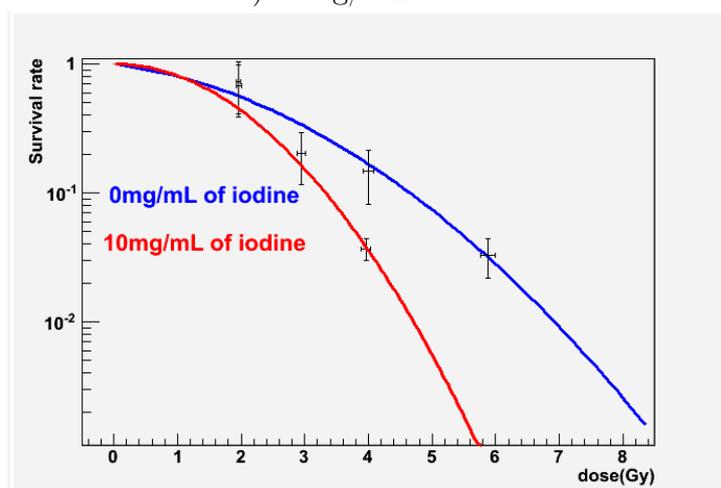
Figure A.4 – Courbes de survie cellulaire obtenues pour des **cellules en suspension** irradiées à **50 keV** en présence ou non de **10 mg/mL d'iode** (Ioméron).



a) 0 mg/mL d'iode

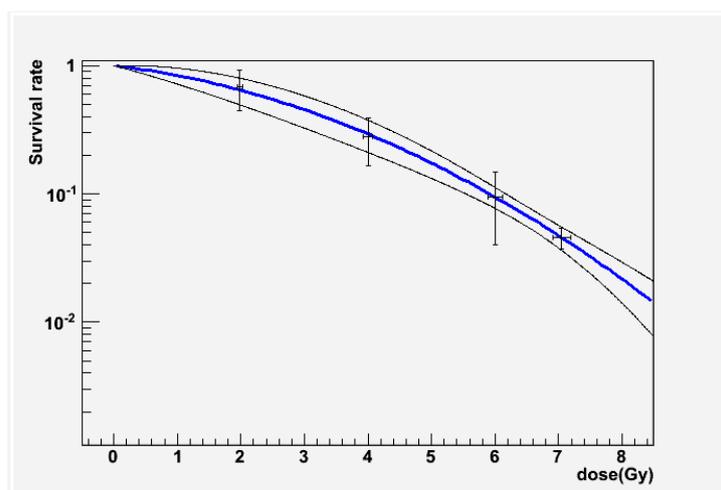


b) 10 mg/mL d'iode

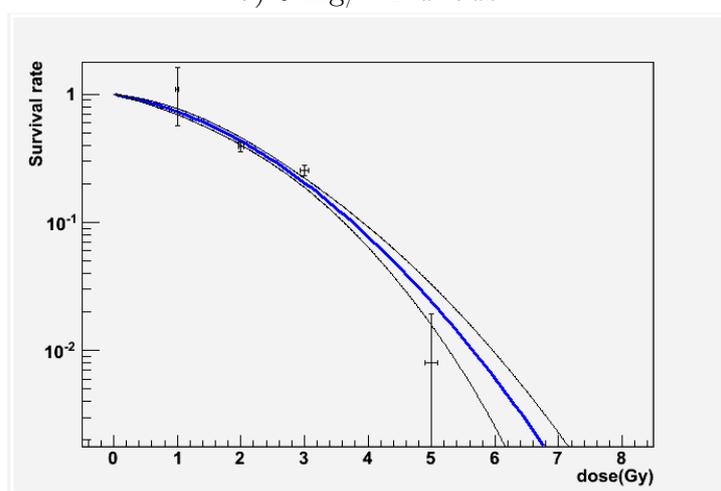


c) Superposition des courbes

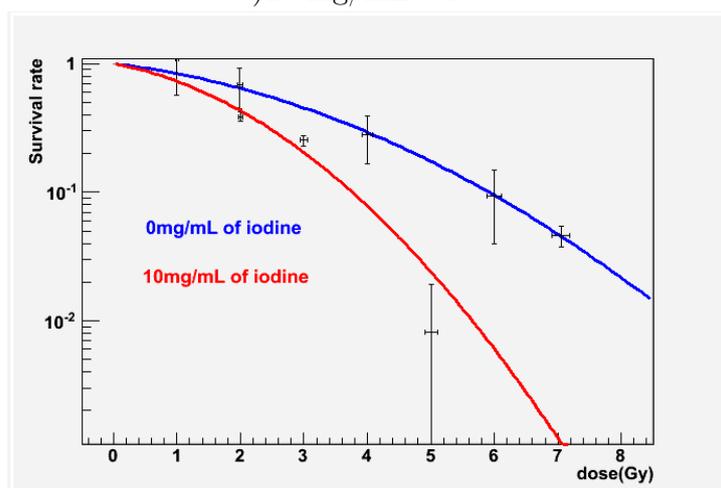
Figure A.5 – Courbes de survie cellulaire obtenues pour des cellules en **sphéroïdes** irradiées à **50 keV** en présence ou non de **10 mg/mL d'iode** (Ioméron).



a) 0 mg/mL d'iode

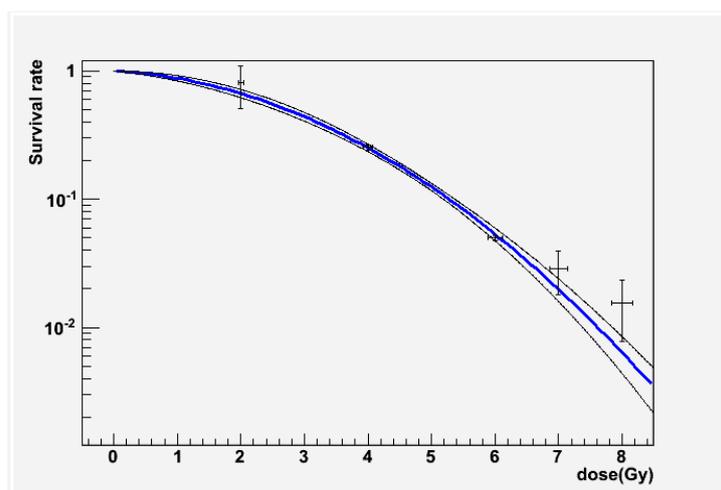


b) 10 mg/mL d'iode

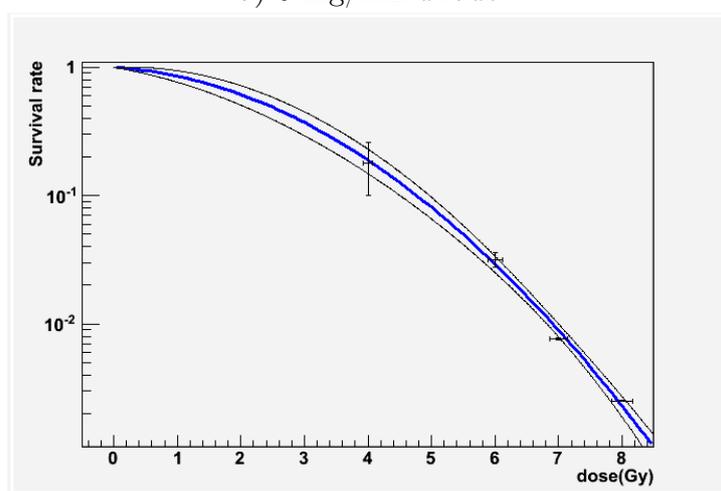


c) Superposition des courbes

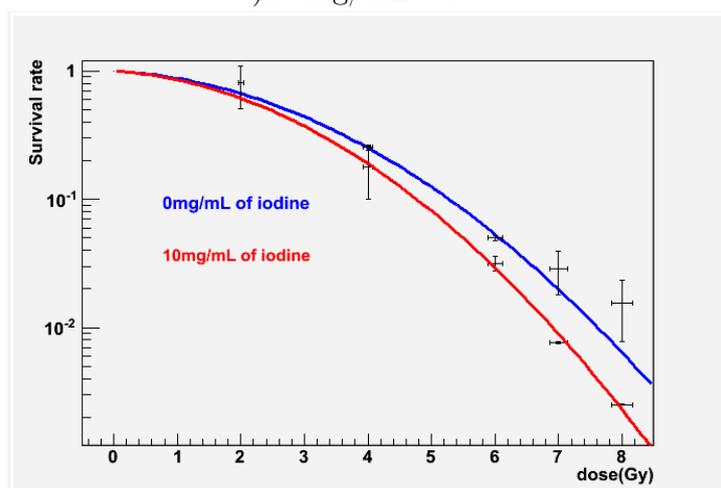
Figure A.6 – Courbes de survie cellulaire obtenues pour des **cellules en suspension** irradiées à **80 keV** en présence ou non de **10 mg/mL d'iode** (Ioméron).



a) 0 mg/mL d'iode

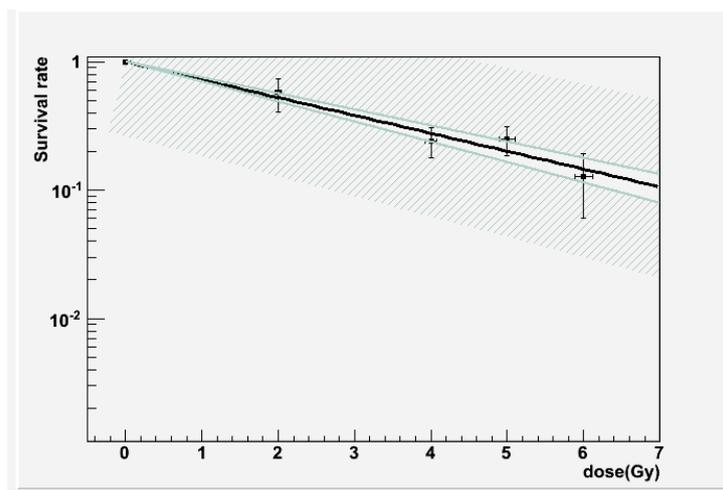


b) 10 mg/mL d'iode

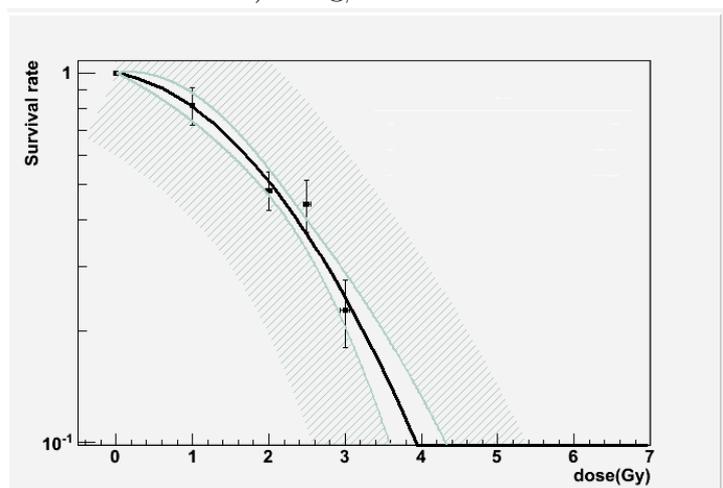


c) Superposition des courbes

Figure A.7 – Courbes de survie cellulaire obtenues pour des cellules en **sphéroïdes** irradiées à **80 keV** en présence ou non de **10 mg/mL d'iode** (Ioméron).



a) 0 mg/mL d'iode



b) 30 mg/mL d'iode

Figure A.8 – Courbes de survie cellulaire obtenues pour des cellules en **sphéroïdes** irradiées à **50 keV** en présence ou non de **30 mg/mL d'iode** (Ioméron).

Annexe B

Publications et communications

B.1 Liste des publications

[1] Y. Prezado, G. Fois, M. Edouard, C. Nemoz, M. Renier, H. Requardt, F. Estève, J. F. Adam, H. Elleaume, and A. Bravin. Biological equivalent dose studies for dose escalation in the stereotactic synchrotron radiation therapy clinical trials. *Med Phys*, 36(3) :725–733, Mar 2009.

[2] P. Deman, M. Edouard, S. Besse, M. Vautrin, H. Elleaume, J.F. Adam, et F. Esteve. Synchrotron radiation therapy. *Rev Med Interne*. 2010 May 26

[3] M. Edouard, D. Broggio, Y. Prezado, F. Estève, H. Elleaume, and J. F. Adam. Treatment plans optimization for contrast-enhanced synchrotron stereotactic radiotherapy. *Med. Phys.* 37 (6), June 2010.

B.2 Liste des communications orales et affichées

Mise en place et validation de la dosimétrie pour la radiothérapie stéréotaxique par rayonnement synchrotron avec optimisation de la balistique. M. Edouard, H. Elleaume, J.F. Adam. “Neurodocs-GIN”, Grenoble (Fr) 28 avril 2008 (oral).

Optimization of the dose distribution for synchrotron stereotactic radiotherapy. M. Edouard, H. Elleaume, J.F. Adam. “New prospects for brain tumour radiotherapy : SYNchrotron light and microbeam RADiation therapy (SYRAD)”, Grenoble (Fr), 2-4 Juin 2008. (oral)

Dosimétrie pour la radiothérapie synchrotron en présence d’éléments lourds. M. Edouard, J.F. Adam, H. Elleaume. “Medicine and Synchrotron Light (Melusyn)”, Paris (Fr), 23 octobre 2008.(oral)

La radiothérapie stéréotaxique par rayonnement synchrotron : Expériences précliniques & optimisation balistique. Journée de la recherche Medicale 2009, Grenoble (Fr), le 24-25 Avril 2009. (poster)

La radiothérapie stéréotaxique par rayonnement synchrotron : Expériences précliniques & optimisation balistique. M. Edouard, H. Elleaume, J. F. Adam. “journée de l’Ecole Doctorale ISCE”, Grenoble (Fr), 7 Mai 2009. (oral). Prix du meilleur oral.

Dosimétrie pour la radiothérapie stéréotaxique par rayonnement synchrotron. M. Edouard, H. Elleaume, J.F. Adam. “Neurodocs-GIN”, Grenoble (Fr), 15 sept 2009. (oral)

Treatment plans optimization for contrast-enhanced synchrotron stereotactic radiotherapy. M. Edouard, D. Broggio, Y. Prezado, F. Esteve, H. Elleaume, J.F. Adam. “Second European Workshop on Monte carlo Treatment planning (MCTP)”, Cardiff (UK), 19-21 octobre 2009. (oral)

Microdosimetric studies for synchrotron contrast- enhancement radiotherapy. M. Edouard, H. Elleaume. “Medical Application of Synchrotron Radiation (MASR)”, Melbourne (Australia), 15-18 février 2010. (oral)

Optimization of contrast-enhanced synchrotron radiotherapy. M. Edouard, D. Broggio, Y. Prezado , F. Estève, J.F. Adam, H. Elleaume. “Medical Application of Synchrotron Radiation (MASR)”, Melbourne (Australia), 15-18 février 2010. (poster)

Monte Carlo simulations and in vitro 3D model to evaluate at a microscopic scale the iodine-enhanced synchrotron stereotactic. M. Edouard, Laure Bobyk, François Estève, Jean-François Adam, Hélène Elleaume. “European society for Therapeutic Radiology and Oncology (ESTRO)”, Barcelona (Spain), 12-16 spetembre 2010. (oral)

Treatment plans optimization for contrast-enhanced synchrotron stereotactic radiotherapy

M. Edouard

INSERM, U836, Equipe 6, B.P. 170, Grenoble Cedex 9 F-38042, France; Université Joseph Fourier, B.P. 51, Grenoble Cedex 9 F-38041, France; and European Synchrotron Radiation Facility, B.P. 220, Grenoble Cedex 9 F-38043, France

D. Broggio

Institut de Radioprotection et de Sûreté Nucléaire, Laboratoire d'Evaluation de la Dose Interne, IRSN/DRPH/SDI/LEDI, B.P. 17, Fontenay-aux-Roses Cedex F-92262, France

Y. Prezado

European Synchrotron Radiation Facility, B.P. 220, Grenoble Cedex 9 F-38043, France

F. Estève, H. Elleaume, and J. F. Adam^{a)}

INSERM, U836, Equipe 6, B.P. 170, Grenoble Cedex 9 F-38042, France; Université Joseph Fourier, B.P. 51, Grenoble Cedex 9 F-38041, France; European Synchrotron Radiation Facility, B.P. 220, Grenoble Cedex 9 F-38043, France; and Centre Hospitalier Universitaire, B.P. 217, Grenoble Cedex 9 F-38043, France

(Received 17 September 2009; revised 28 January 2010; accepted for publication 30 January 2010; published 6 May 2010)

Purpose: Synchrotron stereotactic radiotherapy (SSRT) is a treatment that involves the targeting of high-Z elements into tumors followed by stereotactic irradiation with monochromatic x-rays from a synchrotron source, tuned at an optimal energy. The irradiation geometry, as well as the secondary particles generated at a higher yield by the medium energy x-rays on the high-Z atoms (characteristic x-rays, photoelectrons, and Auger electrons), produces a localized dose enhancement in the tumor. Iodine-enhanced SSRT with systemic injections of iodinated contrast agents has been successfully developed in the past six years in the team, and is currently being transferred to clinical trials. The purpose of this work is to study the impact on the SSRT treatment of the contrast agent type, the beam quality, the irradiation geometry, and the beam weighting for defining an optimized SSRT treatment plan.

Methods: Theoretical dosimetry was performed using the MCNPX particle transport code. The simulated geometry was an idealized phantom representing a human head. A virtual target was positioned in the central part of the phantom or off-centered by 4 cm. The authors investigated the dosimetric characteristics of SSRT for various contrast agents: Iodine, gadolinium, and gold; and for different beam qualities: Monochromatic x-ray beams from a synchrotron source (30–120 keV), polychromatic x-ray beams from an x-ray tube (80, 120, and 180 kVp), and a 6 MV x-ray beam from a linear accelerator. Three irradiation geometries were studied: One arc or three noncoplanar arcs dynamic arc therapy, and an irradiation with a finite number of beams. The resulting dose enhancements, beam profiles, and histograms dose volumes were compared for iodine-enhanced SSRT. An attempt to optimize the irradiation scheme by weighing the finite x-ray beams was performed. Finally, the optimization was studied on patient specific 3D CT data after contrast agent infusion.

Results: It was demonstrated in this study that an 80 keV beam energy was a good compromise for treating human brain tumors with iodine-enhanced SSRT, resulting in a still high dose enhancement factor (about 2) and a superior bone sparing in comparison with lower energy x-rays. This beam could easily be produced at the European Synchrotron Radiation Facility medical beamline. Moreover, there was a significant diminution of dose delivered to the bone when using monochromatic x-rays rather than polychromatic x-rays from a conventional tube. The data showed that iodine SSRT exhibits a superior sparing of brain healthy tissue in comparison to high energy treatment. The beam weighting optimization significantly improved the treatment plans for off-centered tumors, when compared to nonweighted irradiations.

Conclusions: This study demonstrated the feasibility of realistic clinical plans for low energy monochromatic x-rays contrast-enhanced radiotherapy, suitable for the first clinical trials on brain metastasis with a homogeneous iodine uptake. © 2010 American Association of Physicists in Medicine. [DOI: [10.1118/1.3327455](https://doi.org/10.1118/1.3327455)]

Key words: stereotactic radiotherapy, synchrotron radiation, Monte Carlo dosimetry, contrast agents

I. INTRODUCTION

Despite active research efforts, the prognosis of malignant glioma remains poor with a modest survival increase as observed with the current gold standard treatment: chemoradiotherapy with temozolomide.¹ A review from Wen and Kesari² summarizes the various options for the management of these tumors in adults. It is now commonly admitted that external beam radiotherapy provides a significant survival improvement, even if only palliative, and improves the patient quality of life. However these tumors are particularly radioresistant and would require high doses for their complete sterilization. The major obstacle to propose a curative treatment with ionizing radiation remains the limited tolerance of the target surrounding healthy tissue,³ which moreover diminishes with the age of the patient.⁴ The challenge of any treatment using ionizing radiation is to reach a homogeneous lethal dose in the target with the highest gradients on its borders, in order to protect the surrounding healthy tissues.

Contrast-enhanced synchrotron stereotactic radiotherapy is a radiotherapy technique leading to a differential effect that significantly improves the treatment outcome.⁵ The basic idea is to irradiate tumors previously filled with a high-Z material, which would stay mainly in the tumor bed and in its close vicinity³ and to irradiate with medium energy x-rays (50–100 keV) in stereotactic conditions. The concept comes initially from the observation in the late 1970s, of additional blood damages in pediatric diagnostic radiology, when using contrast agents.⁶ Fairchild *et al.*⁷ and Mello *et al.*⁸ rapidly proposed to take advantage of this dose enhancement for treating tumors. Malignant primary brain tumors and brain metastases seemed to be good candidates for this treatment as contrast agents selectively accumulate in the lesion through the locally impaired blood brain barrier. After having modified a CT scanner into a therapy machine,⁹ a series of preclinical studies conducted by Norman and co-workers^{10–13} ended up in a phase I clinical trial on brain metastases, demonstrating the safeness of this technique for treating patients with no deleterious effects.¹⁴ The use of medium energy x-rays to treat cancer could appear surprising nowadays, but as the photoelectric cross section increases proportionally to Z^4/E^3 , where Z is the atomic number of matter and E is the energy of photons, there is a subsequent increase in the absorbing properties restricted to the target level, due to the release of secondary particles (photoelectrons, characteristic x-rays, and Auger electrons) which deposit most of the initial photon energy in the close vicinity of the primary interaction. Photoelectric effect is the photon interaction that deposits locally the largest part of the photon initial energy (when compared to coherent or incoherent scattering events). This leads to improved dose distributions when compared to conventional high energy treatment.^{15,16} The photoelectric events are also significantly increased in the skull bone which should be spared by using specific irradiation geometries such as noncoplanar arcs.¹⁶ The use of a modified conventional CT scanner such as proposed by Norman and co-workers appeared to be the main limitation of the technique

due to (i) the beam shape (fan or cone-shaped beam with a high aperture) which broadens the isodoses as the beam goes through the patient; (ii) a low photon flux and a high thermal load which impose long irradiation times and cooling phases; and (iii) a broad polychromatic spectrum of the beam which increases the dose to the skull and minimizes the dose enhancement effect.

For these reasons, nearly parallel intense and tunable monochromatic beams provided by synchrotron source appear to be a must for this radiotherapy technique. Our team, based at the European Synchrotron Radiation Facility (ESRF), pioneered in that field. Several studies were carried out and are still ongoing using monochromatic x-rays at the ESRF medical beamline. Two different approaches have been simultaneously developed. The one detailed in this paper uses systemic injections of an iodinated contrast agent (intravenous or intra-arterial),^{17–19} which could be coupled with a transient blood brain barrier opener such as mannitol. In this technique, concentrations of several milligrams per milliliters of high-Z element could be reached in the target. Monte Carlo and experimental gel dosimetry have been performed to study the dose enhancement properties and to compare the synchrotron treatment with conventional radiotherapy.^{20–22} The contrast agent remains outside the cancer cells, so many secondary particles will not create damages to the DNA. It is therefore essential to ensure a good distribution of the contrast agent at the microscopic level, close to each cancer cell.

Phase I–II clinical trials of contrast agent (iodine) enhanced synchrotron stereotactic radiotherapy (SSRT) on brain metastasis are currently being prepared at the ESRF. The biological equivalent dose for SSRT was evaluated by Prezado *et al.*²³ It was shown in this study that the skull bone will not receive doses above the tolerance values.

The aim of the present study was to get further toward patient specific optimized treatment plans. First of all, we studied what would be the most suitable combination of high-Z element, monochromatic beam energy, irradiation geometry, and spatial margins dimensions. Second, we proposed a method to optimize the beams weighting in order to get a better homogeneity of the dose deposited in the tumor. The dose calculations were performed with the Monte Carlo code MCNPX and with an analytical human head phantom as the geometry used for the parametric study. Finally, one treatment plan was validated on patient specific 3D CT data after contrast agent infusion.

II. MATERIAL AND METHODS

II.A. Monte Carlo simulations: Source code

Simulations were performed using MCNPX v2.6.0 (Los Alamos National Laboratory, NM), a Monte Carlo code developed for neutrons, photons, and electrons transport calculations.^{24,25} Two methods are available for dose calculations: A pulse height tally (F8) and a track length estimate of energy deposition (F6). Tally F8 is a full dose tally, whereas F6 uses partly analytical calculations for reducing the computation time. A preliminary study (data not shown)

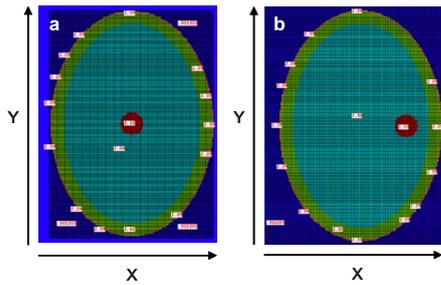


FIG. 1. Axial (XY) central slices of the analytical human head phantom used for the simulations. The phantom is represented in its voxelized form. From left to right, along the X axis, we encounter the following materials: air, skin, skull bone, healthy brain, target (iodine+brain), and again some healthy brain, the skull bone, skin, and air. The tumor was defined centered (a) or off-centered by 4 cm (b).

demonstrated that the doses recorded by the two methods differ by less than 2% for SSRT beams (photons and electrons, $E < 100$ keV) for our irradiation geometries. Tally F6 was thus used for all dose calculations reported in this paper as it is less time consuming. Each simulation was performed with 10^8 initial photons, leading to relative statistical uncertainties on the dose values lower than 0.3% in idealized geometries (analytical phantom) and 6% for patient specific data.

II.B. Monte Carlo simulations: Geometries and irradiation parameters

Two geometries were used in this study: A human head analytically defined phantom and real patient data.

II.B.1. Human head analytical phantom

This model was implemented from the adult head and brain model described by Bouchet *et al.*²⁶ adapted from nuclear medicine studies using the MIRD formalism.²⁷ The use of this type of analytical phantom was also reported in neutron capture therapy studies²⁸ and for biological equivalent dose studies in SSRT.²³

The geometry is described by three ellipsoids equations and is shown in Fig. 1.

Brain:

$$(x/6)^2 + (y/9)^2 + (z/6.5)^2 \leq 1. \quad (1)$$

Skull (1 cm thickness):

$$(x/7)^2 + (y/10)^2 + ((z+1)/8.5)^2 \leq 1 \text{ and } > \text{brain}. \quad (2)$$

Skin (2 mm thickness):

$$(x/7.2)^2 + (y/10.2)^2 + ((z+1)/8.7)^2 \leq 1 \text{ and } > \text{skull}. \quad (3)$$

A tumor has been modeled by a cylinder (2 cm height, 2 cm diameter) filled with a homogeneous mixture of brain material and a high-Z element (iodine, gadolinium, or gold) at a concentration of 0 or 10 mg/ml. The tumor was positioned centered [Fig. 1(a)] or off-centered by 4 cm in the left

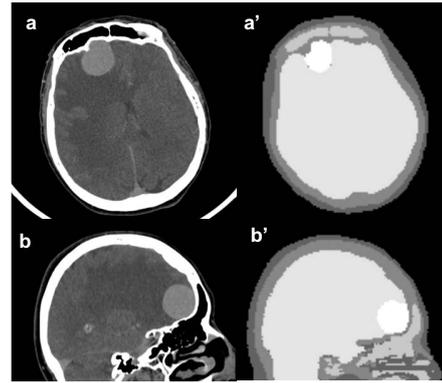


FIG. 2. Left: (a) axial and (b) sagittal CT slices from the patient bearing a brain metastasis that was used for studying a SSRT treatment plan on a realistic case. Right: (a') axial and (b') sagittal slices of the MCNPX geometry obtained after having defined the required structures and associated materials on the CT images. From lower to higher gray levels, we defined air, soft tissues, skull bone, brain, and tumor with iodine, respectively. The represented slices are from the tumor center level.

direction [Fig. 1(b)]. All the tissue compositions and densities were obtained from the ICRU Report 46.²⁹

Once the geometry was generated analytically, it was voxelized with 1 mm^3 isotropic ($200 \times 220 \times 200$) voxels. This methodology is of particular interest for computing histogram dose volumes and dose profiles in all directions.

Some specific parametric studies required only 2D data. In that case, only the central slice was voxelized (200×220 voxels), the remaining of the geometry was kept as analytical volumes.

A square shaped parallel beam was used as source in these simulations, and matches the tumor dimension ($2 \times 2 \text{ cm}^2$) with optional margins (0–5 mm). The source was positioned on an 18 cm radius circle centered on the tumor to ensure its location outside the phantom. The irradiation was simulated with a finite number of beams regularly distributed on this virtual circle, or as a continuous irradiation on 360° . Three noncoplanar arcs tilted by $\pm 20^\circ$ from the XY plane were also simulated as described by Mesa *et al.*¹⁶ and Boudou *et al.*²¹ This latter irradiation geometry was shown to significantly reduce the radiation dose to the skull while keeping a homogeneous coverage of the target.

To simulate synchrotron irradiations, monochromatic beams were generated at the required energy. Polychromatic x-ray beams were used for comparison purposes in order to simulate irradiations from a conventional x-ray tube (80, 120, and 180 kVp) and from a linear accelerator (6 MV). They were generated with the spectra obtained from Verhaegen *et al.*^{30,31}

II.B.2. Brain tumor, patient specific data

A set of 174 CT images (0.8 mm thickness) from a patient bearing a brain metastasis was used to simulate an optimized irradiation scheme [Figs. 2(a) and 2(b)]. These images were acquired after intravenous injection (60 ml in 2 min) of an iodinated contrast agent at 300 mg/ml of iodine (Xenetix[®], Laboratoires Guerbet, France). Automatic and manual con-

TABLE I. Treatment plans performed with the patient geometry (patient specific data). The initial incidence (angle 0°) corresponds to the right lateral beam and the irradiation was performed counter clockwise. Dp means prescribed dose (i.e., the dose at the target center).

Incidence angle (deg)	Treatment plan					
	Ten nonweighted beams		Ten weighted beams		Seven weighted beams	
	Normalized weight	Target dose (Gy)	Normalized weight	Target dose (Gy)	Normalized weight	Target dose (Gy)
0	0.1	$0.07 \times Dp$	0.078	$0.1 \times Dp$	0.230	$0.14 \times Dp$
36	0.1	$0.12 \times Dp$	0.050	$0.1 \times Dp$	0.148	$0.14 \times Dp$
72	0.1	$0.16 \times Dp$	0.035	$0.1 \times Dp$	0.105	$0.14 \times Dp$
108	0.1	$0.18 \times Dp$	0.033	$0.1 \times Dp$	0.097	$0.14 \times Dp$
144	0.1	$0.17 \times Dp$	0.035	$0.1 \times Dp$	0.103	$0.14 \times Dp$
180	0.1	$0.13 \times Dp$	0.045	$0.1 \times Dp$	0.133	$0.14 \times Dp$
216	0.1	$0.09 \times Dp$	0.062	$0.1 \times Dp$	0.184	$0.14 \times Dp$
252	0.1	$0.04 \times Dp$	0.159	$0.1 \times Dp$		
288	0.1	$0.02 \times Dp$	0.322	$0.1 \times Dp$		
324	0.1	$0.03 \times Dp$	0.183	$0.1 \times Dp$		

touring of organs and tissues of interest were achieved with the Isogray treatment planning system (Dosisoft, Cachan, France). The contouring is based on thresholds applied on the CT numbers (for example, 15–60 HU for the brain, 85–105 HU for the tumor, 15–30 HU for the eyes, and 500–1300 HU for the skull bone) and on anatomic criterions (to separate the eyes from the brain, for example, as the respective HU thresholds overlap). After this delineation step, the contour data were imported to the OEDIPE^{32,33} software for automatic voxelization, to match the format required by MCNPX. For this purpose OEDIPE directly uses the closed contours of organs and voxelizes the geometry according to the desired voxel size. The following structures were contoured: skull bone (including cartilage), air cavities, brain, eyes, and tumor containing iodine, as shown in Figs. 2(a') and 2(b'). Note that “other soft tissues” corresponds to the remaining tissues that were not contoured. The final geometry was a 3D matrix of $128 \times 128 \times 87$ voxels (voxel size: $0.165 \times 0.165 \times 0.148$ cm³ each).

The materials associated with these structures were taken from ICRU Report 46.²⁹ The iodine concentration variability in the target volume was lower than the noise in the CT images (~ 10 HU). The patient images used in this study were obtained from diagnostic radiology after conventional injection (60 cm³ of an iodinated contrast agent at 300 mg/ml, in a slow intravenous infusion). This injection protocol is not optimized for SSRT, and, we expect, with dedicated injection schemes, significantly higher concentrations. We therefore raised the initial concentration in the target (~ 3 mg/ml) to 10 mg/ml, to simulate a SSRT treatment. The computations were performed using 10^8 incident 80 keV monochromatic photons. A disk-shaped parallel beam was used (1.8 cm in radius) to provide at least 3 mm margins around the target for all angles. The prescribed dose corresponded to the average dose deposited in the center of the tumor (ROI of 2×2 voxels).

Three irradiation schemes were studied: (a) Ten beams

equally spaced and equally weighted; (b) ten beams with optimized weights; and (c) seven beams with optimized weights. The latter irradiation scheme, using an odd number of beams, was simulated to evaluate whether the treatment quality decreases with a smaller number of beams and to study the influence of nonfacing incidences. Indeed with an even number of beams, equally spaced, the attenuation of the dose deposited by one beam is compensated by its opposite beam. This geometry could also lead to increased dose to the skull bone.

The beam weights were determined according to a method adapted from Verhaegen *et al.*³¹ Briefly, the relative dose deposited in the whole tumor for a given incidence was simulated with MCNPX (10^8 initial particles). The inverse of this relative dose divided by the number of beams leads to a non-normalized weight, which corresponds to the contribution to the total dose of this beam. This weight is then normalized so that the sum of all beam weights is equal to one. The angles and weights that were calculated for each beam are reported in Table I. The initial incidence (angle 0°) corresponded to a lateral beam (right) and the irradiation was performed counter clockwise.

To provide quantitative data on the tumor dose homogeneity, a dose profile asymmetry factor was defined as follows:

$$S = 100 \times \frac{A_L - A_R}{A_L + A_R}, \quad (4)$$

with A_L and A_R the areas under the left and right parts of the 0° target dose profile. The center of the target profile was defined at the isocenter.

III. RESULTS

III.A. Dose enhancement in the tumor

The dose enhancement factor (DEF) was defined as the dose received by the whole tumor in presence of contrast

TABLE II. Dose enhancement factors calculated in the centered tumor loaded with 10 mg/ml of iodine, gadolinium, or gold, for different beam qualities: 80 kVp, 120 kVp, 180 kVp, and 6 MV polychromatic x-ray beams and 37, 43, 58, and 80 keV monochromatic x-rays. E_{eff} stands for effective energy, which is the monochromatic energy that gives the same half-value layer (in mm of Al) than the one obtained from the corresponding polychromatic beam.

Beam quality	Monochromatic beams					Polychromatic beams			
	37 keV	43 keV	58 keV	80 keV	1.66 MeV	80 kVp 2 mm Al filtration $E_{\text{eff}}=37$ keV	120 kVp 2 mm Al filtration $E_{\text{eff}}=43$ keV	180 kVp 0.2 mm Cu filtration $E_{\text{eff}}=58$ keV	6 MV $E_{\text{eff}}=1.66$ MeV
DEF for iodine	1.93	2.23	2.37	1.96	1.01	2.18	2.10	1.87	1.01
DEF for gadolinium	1.69	1.71	2.27	2.14	1.01	1.94	2.01	1.88	1.01
DEF for gold	2.23	2.30	2.15	1.71 ^a	1.01	2.17	2.07	1.90	1.01

^aDEF=1.97 at 80.3 keV, just above the gold *K*-edge.

agent, relative to the dose received by the whole tumor without the high-*Z* element. The DEF was calculated relative to

- (1) The beam quality (for monochromatic and polychromatic beams);
- (2) The high-*Z* element type (I, Gd, or Au);
- (3) The irradiation geometry (dynamic arc-therapy or finite number of ports); and
- (4) The tumor location (centered or off-centered).

The DEFs obtained using different polychromatic beams from x-ray tubes (80, 120, and 180 kVp) were compared to the DEFs obtained with monochromatic x-ray beams at 37, 43, and 58 keV (corresponding to the effective energy of the polychromatic beams), 80 keV, and to linac x-rays (6 MV). The results are reported in Table II and Fig. 3.

It is worth noticing that the maximum value of the DEF as a function of beam energy was not obtained just above the *K*-edge energy of the radiation enhancer, but at 50, 60–70, and 40–50 keV for iodine, gadolinium, and gold, respectively (Fig. 3). For comparison purposes, the *K*-edge energies of these elements are 33.17, 50.2, and 80.2 keV. The maximum DEF is observed over a broad range of energy (about 10 keV wide) around the optimal value. Similar curves and values were obtained for all irradiation configurations and tumor locations (values were within 2%). The main reason is that the gap between the mass energy absorption coefficients

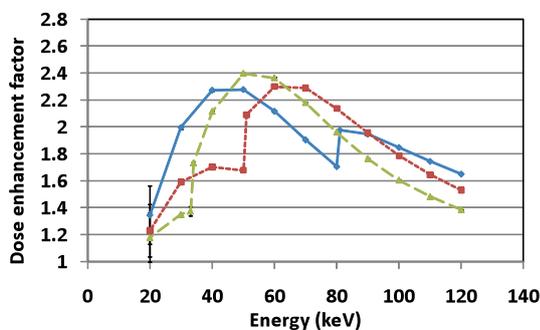


FIG. 3. Dose enhancement factor versus the x-ray beam energy for the tumor located in the center of the analytical phantom and loaded by 10 mg/mL of iodine (long—dashed curve), gadolinium (short—dashed curve), or gold (solid curve).

(contrast versus tissue) is higher around the optimal energy, when compared to its value at the *K*-edge energy.

The polychromatic low energy x-ray beams provide also subsequent DEF values (>1.70), whereas linac sources provide a negligible DEF (1.01). For iodine and polychromatic beams, the highest DEF is obtained for 80 kVp x-rays because the average energy of the photons reaching the tumor (as calculated by MCNPX) is around 68 keV in comparison to 73 keV for the 120 kVp beam.

III.B. Dose distribution versus beam quality

Dose profiles were computed along the *X* axis (Fig. 1) through the tumor center in the central slice of the analytical phantoms and were used to study dose distributions versus beam quality. These profiles were normalized to the dose in the central voxel of the tumor. A particular attention has been paid to dose gradients at the tumor-brain interface and to the dose delivered to the skull. Figure 4 shows the dose distribution obtained in the central slice of the analytical human head phantom (80 keV monochromatic x-rays, continuous arc irradiation) and the lateral profiles through the tumor for the different beam qualities: Monochromatic 80 keV and polychromatic beams at 80, 120, and 180 kVp and 6 MV (tumor centered). The main advantage of using monochromatic radiation in comparison to polychromatic beams from x-ray tubes is to reduce the dose delivered to the skull bone [Figs. 4(b) and 4(d)] due to the presence of a large number of low energy photons in the polychromatic beams spectra. For an 80 keV irradiation, around 33% of the prescribed dose is deposited in the skull bone, whereas 190%, 110%, and 55% of the prescribed dose is received by the skull bone with a 80, 120, and 180 kVp beam, respectively. With 6 MV, the doses delivered to the skull are lower than 15% of the prescribed dose, with the same irradiation geometry. However, with linac energies, the doses delivered to the healthy brain are higher when compared to low energy beams (monochromatic and polychromatic). A difference between +25% and +50% is obtained close the tumor. The average dose limit to the bone is 60 Gy, whereas the dose limit to the brain is between 45 and 60 Gy according to the size and location of the irradiated area (2 Gy fractions).³⁴ This gain on the dose delivered to the healthy brain is mandatory to reach curative

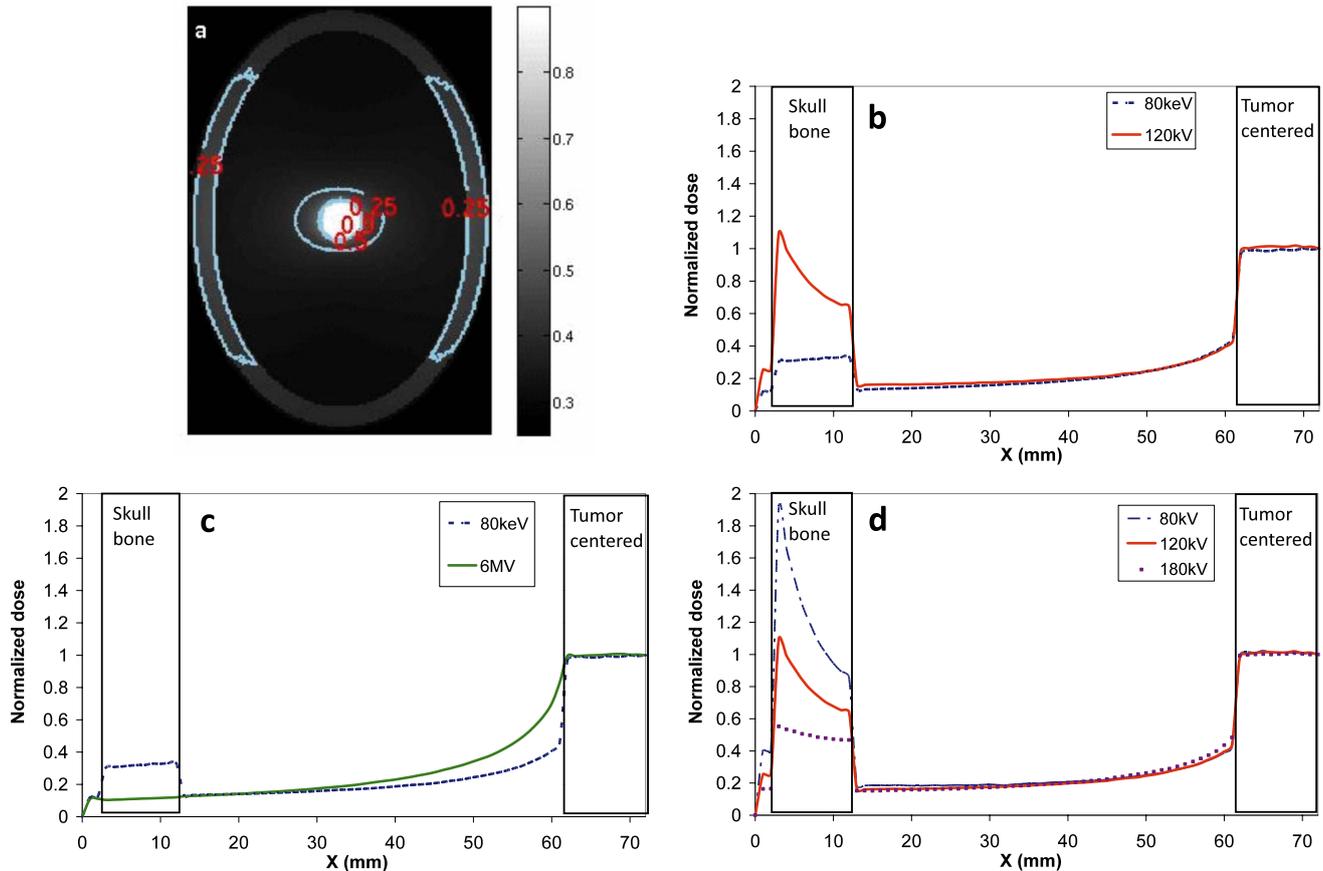


Fig. 4. (a) Relative dose distributions obtained on the human head analytical phantom, with the tumor centered. The 25%, 50%, and 90% isodoses are drawn on the normalized dose map obtained with an 80 keV single-arc irradiation geometry. (b)–(d) Lateral (along X) normalized dose profiles computed through the central voxel of the analytical human head phantom. Only the left part of the profiles is represented for a better understanding, as they are symmetrical. 80 keV and 120 kVp irradiations are compared in (b); 80 keV and 6 MV (linac) irradiations are compared in (c); 80, 120, and 180 kVp polychromatic x-ray tube beams are compared in (d). The profiles were normalized at the center of the tumor containing 10 mg/mL of iodine.

doses in the target, with a higher differential effect. It is also interesting to decrease the dose to the brain for reirradiation purposes as recurrences are a major issue with brain tumors. In the meanwhile, the dose delivered to the skull is kept below the doses that could produce adverse effects such as necrosis.²³

III.C. Dose distributions according to irradiation geometry

Normalized dose volumes histograms (DVHs) were computed to evaluate the impact of the irradiation geometry on the dose distribution. The prescription dose was accounted at the center of the tumor (isocenter of the system). Two types of DVHs were defined in this study: An “axial DVH” and a “volumetric DVH.” The axial DVHs were computed when the dose tallies were calculated only in the central axial slice (fastest simulations). Volumetric DVHs were computed when a full 3D study was required. In this latter case, 100% of the tumor volume stands for the whole structure. For the skull or for the brain, 100% of the volume is arbitrarily defined as the volume encompassing ± 4.5 cm around the tumor center; otherwise the ratio dose/volume received by these organs is

too low to be seen on the DVHs. A continuous single-arc-therapy serves as reference, as described in preclinical SSRT papers.^{17,19,20,35,36} Three noncoplanar-arc-therapy geometry¹⁶ as well as a finite number of incidences irradiation geometries were also studied. The latter option is foreseen for the first SSRT clinical trials.²³ Axial DVHs (central slice) and volumetric DVHs are represented in Fig. 5 for a centered tumor, loaded with 10 mg/mL of iodine and irradiated with a 80 keV monochromatic x-ray beam.

III.C.1. Axial DVHs

A three-arc irradiation leads to a better protection of the organs at risk: The brain and the skull bone receive lower doses than with the continuous irradiation for similar tumor coverage [Fig. 5(a)]. Indeed, 21% of the prescribed dose is received by 100% and 25% of the skull, for a single-arc and for a three-arc irradiation, respectively. 10% of the prescribed dose is received by 100% and 40% of the brain for a single arc and for the three arcs, respectively. In both cases, 95% of the tumor received 95% of the prescribed dose. For a ten-beam irradiation, the dose distributions in the brain and in the skull are subsequently different than with continuous

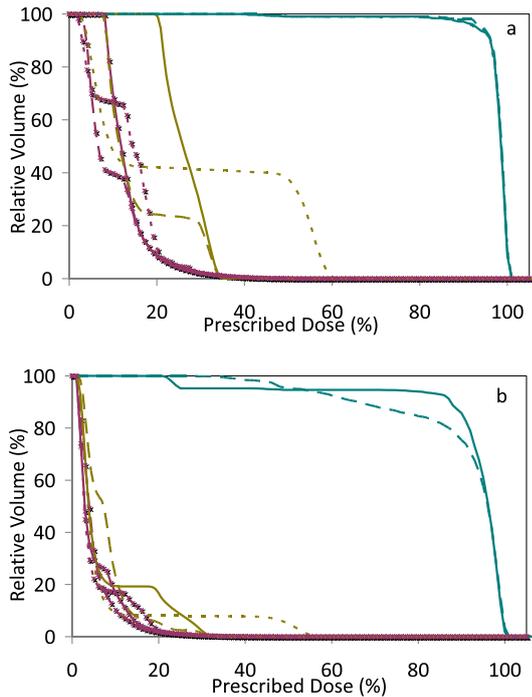


FIG. 5. DVHs comparing three irradiation geometries: A continuous single-arc therapy (solid curves), three noncoplanar arcs (dashed curves), and a finite number of beams (ten beams, dotted curves) equally distributed around the tumor. The curves on the right side of each plot correspond to the tumor DVHs, the curves on the left with cross marks to the brain DVHs, and the curves in the middle to the skull bone DVHs. (a) represents the axial DVHs in the central axial slice of the phantom and (b) represents the volumetric DVHs.

single or multiple arc-therapy. Around 40% of the skull bone received more than 50% of the prescribed dose. For the continuous irradiations no skull part received more than 35% of the prescribed dose. The same trend is observed for the healthy brain but to a lower extent. 65% of the brain irradiated with ten beams received more than 15% of the prescribed dose while those 15% are received by less than 40% of the brain for continuous irradiations.

III.C.2. Volumetric DVHs

A similar coverage of the tumor is obtained between a continuous single-arc therapy and a ten-beam irradiation. The three-arc gave a reduced skull dose but poorer target coverage as the noncoplanar angles do not match exactly the target shape. There is no real advantage in using a continuous coplanar irradiation, when compared to a ten beam irradiation, except that the dose is spread over a larger skull volume. For continuous irradiations, the whole skull bone re-

TABLE III. Dose variability (σ_D/D) versus the margin sizes for an irradiation of a centered tumor at 80 keV.

Margin size (cm)	0	0.1	0.3	0.5	1
σ_D/D	0.178	0.050	0.046	0.045	0.044

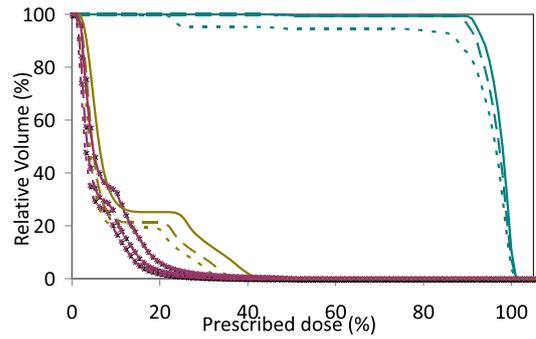


FIG. 6. DVHs comparing three margins sizes: 0 (dotted curve), 1 (dashed curve), and 3 mm (solid curve). The curves on the right side of the plot correspond to the tumor DVHs, the skull bone, the curves on the left with cross marks to the brain DVHs, and the curves in the middle to the skull bone DVHs.

ceived less than 35% of the prescribed dose. For a ten-beam irradiation, even if 90% of the skull bone received less than 10% of the prescribed dose, 8% of the skull bone received between 45% and 60% of the prescribed dose. For each irradiation geometry, around 60% of the tumor receives more than 95% of the prescribed dose. For the brain, less than 20% of this organ received more than 10% of the prescribed dose whatever the irradiation scheme was.

III.D. Use of margins for increasing dose distribution homogeneity

The quality of target coverage versus the margin sizes has been studied by computing histogram dose volumes and by evaluating the uniformity of the dose delivered to the target. This parameter has been assessed for the whole tumor volume as the standard deviation of the dose divided by the average dose delivered to the tumor (σ_D/D) (Table III). A large improvement in the dose uniformity was obtained using margins of 1 mm. Further increase in the margins size improved only slightly the dose distribution. Figure 6 shows the volumetric DVHs obtained with margins of 0, 1, and 3 mm. For a centered tumor and nonweighted beams, 82% of the target received more than 95% of the prescribed dose.

III.D.1. Dose homogeneity versus tumor position

The values of tumor dose variations in case of centered and off-centered tumors are reported in Table IV. The dose profiles obtained using a single-arc irradiation scheme are shown on Fig. 7. The dose distributions in off-centered tumors would be very inhomogeneous when using non-weighted beams. The dose profile asymmetry factor [Eq. (4)] is greater than 11% in this particular case, which shows the need for an appropriate beam weighting methodology.

III.E. Optimization of dose distribution by weighting the beams

III.E.1. Analytical human head phantom

Figure 8 shows the axial DVHs obtained in the analytical human head phantom (target, brain, and skull bone) for a ten

beam irradiation, with nonweighted and weighted beams (off-centered target). The weighting methodology raises the percentage of the target that receives 95% of the prescribed dose from 64% to 87% for nonweighted and weighted beams, respectively. This dose distribution improvement is, however, slightly detrimental to the dose delivered to the other organs as we can see in Fig. 8, especially for the bone.

III.E.2. Patient specific data

The volumetric DVHs comparing the nonweighted and the two optimized (ten and seven beams) irradiation schemes are shown in Figs. 9(d) and 9(e) for irradiation with 80 keV x-ray and a 6 MV spectrum, respectively. For the 80 keV x-ray irradiation, the ten nonweighted beams provide similar target coverage in comparison to the seven weighted beams. In this specific case, the treatment plan with seven weighted beams is not realistic for a real treatment, as the tumor coverage is imperfect: Only 63% of the target received 95% of the prescribed dose. In a ten beams irradiation protocol, the weight of the beam having the longest path to the target (180°) had to be increased up to 30%, which led to an increase in the dose delivered to the skull as shown in Fig. 9(b). The percentage of the target receiving 95% of the prescribed dose was 59%, 63%, and 75% for ten nonweighted beam irradiation, seven weighted beam irradiation, and ten weighted beam irradiation, respectively. 100% of the target received 75%, 75%, and 83% of the prescribed dose, for ten beam nonweighted beams irradiation, seven weighted beam irradiation, and ten weighted beam irradiation, respectively. The maximal doses measured in the PTV were 118%, 120%, and 113% for ten beam nonweighted beams irradiation, seven weighted beam irradiation, and ten weighted beam irradiation, respectively. The dose profile asymmetry values obtained on vertical and horizontal profiles [illustrated in Fig. 9(a)] are reported in Table V.

Symmetries obtained for the horizontal profile are relatively constant because the tumor is centered in this direc-

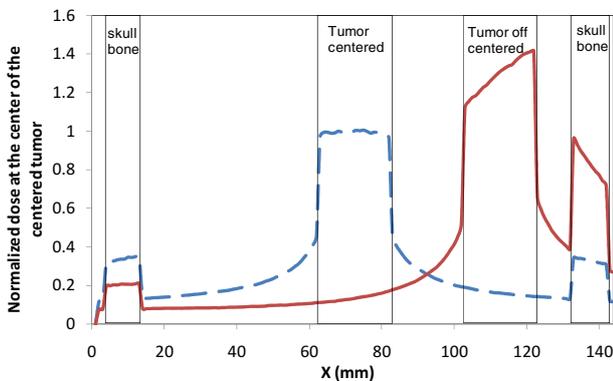


FIG. 7. Lateral dose profiles (X) for a tumor centered (dashed line) and a tumor off-centered by 4 cm (solid line), irradiated with an 80 keV monochromatic beam. The dose profiles were normalized to the dose delivered to the central voxel of the centered tumor (analytical phantom irradiated with a single arc).

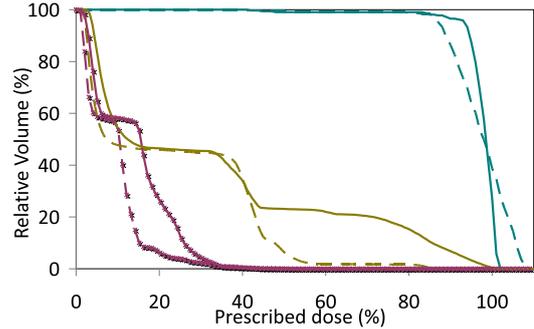


FIG. 8. Axial DVHs for ten nonweighted beams (dotted curve) and ten weighted beams (solid curve) in the human head analytical phantom irradiated at 80 keV. The curves on the right side of the plot correspond to the tumor DVHs, the curves on the left with cross marks to the brain DVHs, and the curves in the middle to the skull bone DVHs.

tion. On the vertical profile, the symmetry is improved from 9.3% to 0.7% between the nonweighted and weighted beams irradiation, respectively.

For a 6 MV x-ray irradiation, the target coverage is similar for the three irradiation geometries: 100% of the tumor receives 93%, 94%, and 94% of the prescribed dose and the hot spots obtained are 105%, 103%, and 102% for seven weighted beams, ten nonweighted beams, and ten weighted beams, respectively.

IV. DISCUSSION

IV.A. Contrast agent enhanced radiotherapy using synchrotron radiation

Interesting dose distributions with a favorable differential effect can be obtained using contrast agents enhanced synchrotron stereotactic radiotherapy. In particular, a significant sparing of the healthy brain could be obtained with iodine, when compared to 6 MV conventional treatments, as demonstrated in this paper. In SSRT, the average dose delivered to the brain outside the target is almost a factor of 2 lower in comparison to 6 MV treatment, as shown in Fig. 4(c). For megavoltage irradiation, Compton scattering is the dominant photon interaction process and the recoil electron is mainly responsible of the dose deposition. Moreover the beam attenuation through matter is relatively slow when compared to x-rays in the kilovoltage range. The 50% depth dose occurs below 6 cm of water for kilovoltage x-rays, whereas it is deeper than 15 cm of water for megavoltage x-rays. In this case, only the conformational irradiation geometry will pro-

TABLE IV. Dose variability (σ_D/D) for centered and off-centered tumors. These values are calculated in a $1 \times 1 \times 1$ cm³ ROI positioned in the middle of the tumor and on the entire tumor volume with no margins.

	Centered tumor	Tumor with 4 cm of offset
σ_D/D ($1 \times 1 \times 1$ cm ³ ROI)	0.01	0.04
σ_D/D (entire volume)	0.18	0.19
Symmetry ^a	0.1	11.2

^aSee Eq. (4), in %.

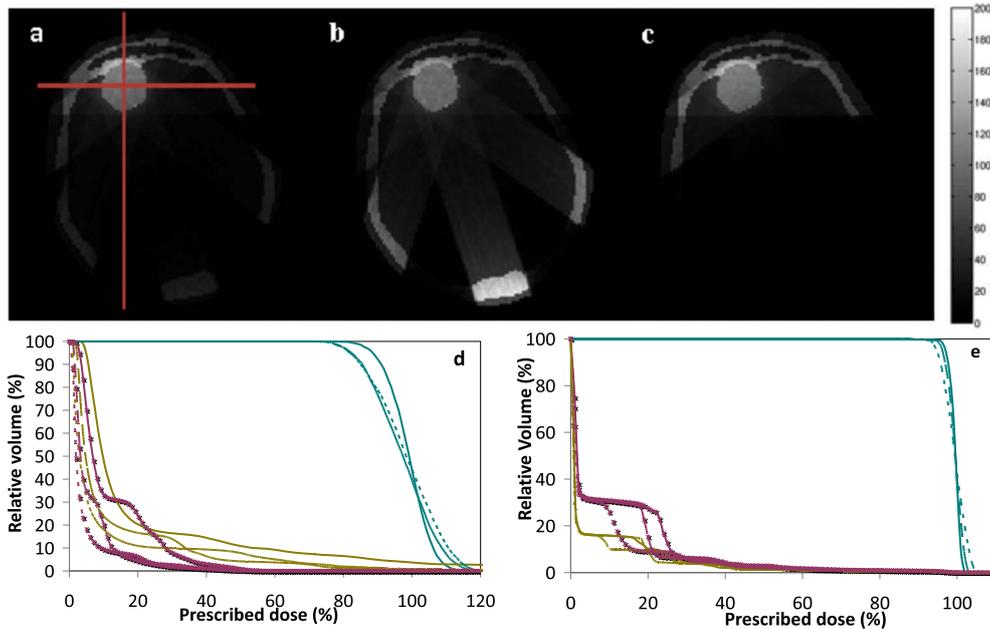


FIG. 9. Relative dose map obtained (a) for the nonoptimized irradiation scheme with ten equally spaced beams, (b) for the ten weighted beam irradiation scheme, and (c) for seven weighted beams. The horizontal and vertical profiles crossing the target center and used for symmetry calculation purposes are shown in dark lines in (a). The volumetric DVHs for ten nonweighted beams (dashed curve), ten weighted beams (solid curve), and seven weighted beams (dotted curve) are also represented for an irradiation with 80 keV monochromatic x-rays (d) and for a 6 MV linear accelerator x-ray beam (e). The curves on the right side of each subplot correspond to the tumor DVHs, the curves with cross marks to the brain DVHs, and the curves without marks to the skull bone DVHs.

vide a lower dose to the surrounding healthy tissues. In case of SSRT, two effects superimpose and leads to a lower dose to the surrounding brain: The geometric sparing effect due to the conformational irradiation (but with beams that were more attenuated before reaching the target) and the photoelectric effect that occurs on the heavy atoms present in the target and which produces a localized dose enhancement (due to photoelectrons and characteristic x-rays with energies of some tens of keV). The combination of these two effects leads to an increased differential effect. The comparison of typical ^{60}Co and contrast-enhanced radiotherapy depth dose curves are detailed on Fig. 2 in the paper from Mello *et al.*⁸

This innovative treatment leads to biological equivalent dose compatible with dose escalation in clinical trials.²³ Clinical trials are foreseen in the near future at the European Synchrotron Radiation Facility.

IV.A.1. Contrast agent type and concentration

Similar dose enhancement factors (from 1.9 to 2.35) are obtained for various contrast agents at same concentration: Iodine, gadolinium, and gold, for monochromatic beam en-

ergies between 50 and 90 keV (Fig. 1). These three contrast agents could be delivered at concentrations on the order of several mg/ml in brain tumors. Conventional iodine and gadolinium contrast agents used in CT and MRI, respectively, have a similar uptake in tumors^{18,37} as they have close molecular weight and remain extracellular. Gold nanoparticles^{38–40} might also be of interest as the nanoparticles can be incorporated in tumor cells. Promising preclinical results were obtained by Hainfeld and collaborators⁴⁰ using gold nanoparticles for the treatment of a glioma model implanted subcutaneously on mice legs. A modest survival improvement was, however, reported by another team for the treatment of rats bearing intracranial gliomas.³⁸ Toxicity could also be an issue with high concentrations of gold.

The concentration that can safely be reached in brain tumors through the impaired blood brain barrier remains an open question. For the parametric studies developed in this paper, a 10 mg/ml iodine concentration has been chosen as a realistic concentration achievable in the tumor. Iodinated contrast agents will be used in the first SSRT clinical trials as they are routinely used in diagnostic radiology and their adverse effects are well known. In radiology, 1–5 mg/ml of iodine can be measured in brain metastasis with a homogeneous distribution^{14,16} after intravenous infusions of 1–2 ml/kg of 300 mg/ml iodinated contrast agent. For a therapeutic treatment, an optimized infusion protocol could be used for increasing the iodine tumor uptake. As proposed by Rose *et al.*,¹⁴ the amount of contrast agent injected and its concentration could be increased (3–4 ml/kg and 400 mg/ml, for example). One could also envisage using arterial injections

TABLE V. Dose profile asymmetry values for the three irradiation geometries obtained on horizontal and vertical profiles.

	Ten beams nonoptimized	Ten beams optimized	Seven beams optimized
Horizontal profile	2.4	2.3	2.9
Vertical profile	9.3	0.7	7.3

coupled with transient blood brain barrier opener such as mannitol.¹⁸ A uniform uptake of iodine is a well known clinical feature for several brain tumors such as brain metastasis or meningiomas.⁴¹ Our team has initiated a study on brain metastasis iodine uptake, after bolus infusion and slow injection protocols. A homogeneous uptake was observed in about 50% of the 15 patients studied so far; it is, however, too early to conclude. It is also important to emphasize that the contrast enhancement in the healthy parts of the brain remains negligible. This correlates with the descriptions of Patronas⁴² of brain metastasis on postcontrast CT images: small metastatic tumors appear as solid nodular lesions and enhance homogeneously, whereas larger metastasis with necrosis demonstrate ringlike enhancement. This feature correlates also with our previous findings on the F98 rat glioma model.¹⁸

IV.A.2. Optimal irradiation energy

The maximal DEF was obtained between 50 and 60 keV, for all three contrast agents considered in this study. This has been validated for iodine with experimental *in vitro* studies.⁴³ However, it is difficult to propose clinical treatments at 50 keV due to the poor penetration of the beam and the high dose deposited in the bone. A beam energy of 80 keV seems to provide a good compromise for a better tissue penetration while keeping a significant dose enhancement factor for 10 mg/ml of high-Z element (DEF ~ 2 for iodine).^{21,23} From 50 to 80 keV, the brain half value layer increases from 2.93 to 3.64 cm and the bone mass absorption coefficient is three times lower. A further increase in the energy would lead to a significant decrease in the DEF. Modifying the energy of the x-ray beam for each incidence could also lead to significant improvement in dose distributions for off-centered tumors. This optimization has not been performed yet but warrants further investigations.

The dose enhancements obtained in this study in realistic irradiation conditions (2.35 at 50 keV) are slightly lower than the one calculated with mass absorption coefficients^{15,18} or with depth dose curves⁴⁴ (around 2.5 at 50 keV). This discrepancy can be explained by the difference of the beam spectra reaching the target. In the head phantom, the low energy content reaching the tumor is higher due to initial Compton events. Using a conventional x-ray unit (100 kVp and 49 keV equivalent energy), Rose *et al.*¹⁴ derived a theoretical relationship between the DEF and the iodine concentration

$$\text{DEF} = 1 + 0.14[\text{I}] \quad (5)$$

with [I] being the iodine concentration in mg/ml.

This would lead to a DEF equal to 2.4 for 10 mg/ml of iodine with a polychromatic spectrum, which is coherent with the values found in this study. Verhaegen *et al.*³¹ have found DEFs equal ranking from 4 to 6 for 65–85 keV monochromatic x-rays and 80–180 kVp x-ray units ([I] = 50 mg/ml), calculated in an analytical phantom with an arc-therapy irradiation geometry. The values obtained for low energy polychromatic spectra in this study (1.87–2.18)

are also in good agreement with results of Verhaegen and co-workers, using the calibration proposed by Rose *et al.*¹⁴ to scale down their values to 10 mg/ml. It is interesting to note that the low energy polychromatic x-ray beams provide also large DEF values (>1.70), which are higher than the DEF which would be obtained for their monochromatic effective energy due to the beam hardening in the bone and brain before reaching the tumor. However, the dose distribution can be prohibitive for clinical applications due to the dose delivered to the skull, as detailed in the dose volume histograms shown in this paper. High energy linac sources provide a negligible DEF (1.01) in good agreement with the studies of Robar *et al.*⁴⁵

IV.B. Dose distribution optimization

In SSRT, continuous arc-therapy leads to the most favorable dose distributions, especially for the skull bone, with equivalent target coverage (Fig. 5). This is coherent with similar studies on patient specific data, with a simulated target.^{16,21} A three noncoplanar-arc therapy significantly reduces the skull bone dose but slightly increases the dose to the healthy brain if the beam shape is not modified to match the projected tumor shape.

A finite number of beam incidences has been chosen for the first clinical trials at the ESRF. In order to get as close as possible to dynamic arc-therapy the beams should be distributed tightly enough. We demonstrated in this paper that the use of ten beams, equally distributed, provides similar tumor coverage, when compared to a single-arc therapy. Nine equally distributed beams have been tested by Prezado *et al.*²³ on the same human head analytical phantom. Seven beams have been tested in this study on patient specific data. However, even if odd numbers of beams significantly reduce the hot dose spots delivered to the skull bone, we show here that facing beams are necessary to homogenize the dose distribution in the target, because of the attenuation of low energy x-rays through the target which cannot be neglected. This is not the same case with a 6 MV x-ray irradiation, which has already good tumor coverage without beams weighting, because of a low attenuation through the tumor.

We demonstrated that the use of margins improves the dose distribution (Fig. 6); 1 mm margins significantly improve the target dose homogeneity in SSRT. This margin size is enough to reach the electronic equilibrium for 80 keV x-rays. The use of 3 mm margins improves further the dose distribution but this might be related to the voxelized geometry. The margins size being three times larger than the voxel size, side effects such as partial volume averaging effect are eliminated. A further increase in the margins size increases the doses deposited to the healthy tissues, with almost no benefit on the target coverage. This result is encouraging as 3 mm margin sizes are commonly applied to the PTV to define field sizes in brain metastasis stereotactic radiotherapy, with an accurate patient positioning system.⁴⁶

With the beam weighting procedure described in this paper, 100% of the target receives at least 83% and 82% of the prescribed dose, for the human head analytical phantom (off-

centered target) and the patient presented in this study, respectively. It is important to note that the prescribed dose is accounted at the center of the target (isocenter of the irradiation system) and that the ICRU requirements can easily be reached if the prescription is performed on an isodose rather than on a point. This would lead to hot spots up to 130% of the prescribed dose, but only located in the PTV itself. Indeed the dose variability in the target remains higher than with conventional megavoltage treatments due to intrinsic significant beam attenuation in the target in contrast agent enhanced radiotherapy. Intensity modulated radiotherapy could be considered for further improvement in the PTV dose distribution. It is also important to note that the contrast agent concentration in the tumor was homogeneous in the simulated case. If this is not the case, the dose heterogeneity in the target would further increase. However, all these considerations do not affect at all the dose distribution in the healthy tissues for a given prescribed dose.

V. CONCLUSION: TOWARD A TREATMENT PLANNING SYSTEM THAT CAN BE USED IN CONTRAST-ENHANCED CLINICAL TRIALS

We have demonstrated in this parametric study that an optimized SSRT treatment could significantly reduce the dose to the healthy brain when compared to megavoltage irradiation.

We have found that the optimal range of energy for iodine, gadolinium, or gold element was 50–90 keV. We have chosen 80 keV x-rays to process with our optimization studies. This energy is a good compromise between dose enhancement (almost 2 for 10 mg/mL of iodine) and healthy tissue sparing. 3 mm margins are required to obtain a good coverage of the target. We have also demonstrated in this paper the interest of using an even number of beams. Finally, a beam weighting optimization procedure has been validated on patient specific data. The next step is to develop a clinical treatment planning system adapted to this particular treatment modality as it has to include the ESRF medical beamline specificities such as beam shape (fixed horizontal fan beam), fluence homogeneity, beam modifiers, and beamline components including the patient positioning system, which is a robotic chair including a stereotactic frame holder.⁴⁷

ACKNOWLEDGMENTS

The authors would like to thank Professor Franck Verhaegen for providing the spectra data, ESRF SCISOFT team, especially Rainer Wilcke and Dr. Claudio Ferrero for MCNPX and other software issues, and Mathias Vautrin and Pierre Deman for DICOM segmentation.

^{a)} Author to whom correspondence should be addressed. Electronic addresses: adam@esrf.fr and jean_francois.adam@esrf.fr; Telephone: (+33) 4-7688-2989; Fax: (+33) 4-7688-2885.

¹R. Stupp, M. E. Hegi, M. R. Gilbert, and A. Chakravarti, "Chemoradiotherapy in malignant glioma: Standard of care and future directions," *J. Clin. Oncol.* **25**, 4127–4136 (2007).

²P. Y. Wen and S. K. Sesari, "Malignant gliomas in adults," *N. Engl. J. Med.* **359**, 492–507 (2008).

³A. R. Kagan, H. A. Gilbert, H. Nussbaum, P. Chan, J. Wagner, and K.

Fuchs, "Success of treatment of brain metastasis with radiation therapy," *Int. J. Radiat. Oncol., Biol., Phys.* **2**, 74–75 (1977).

⁴W. Roa *et al.*, "Abbreviated course of radiation therapy in older patients with glioblastoma multiforme: A prospective randomized clinical trial," *J. Clin. Oncol.* **22**, 1583–1588 (2004).

⁵J. F. Adam, M. C. Biston, J. Rousseau, C. Boudou, A. M. Charvet, J. Balosso, F. Esteve, and H. Elleaume, "Heavy element enhanced synchrotron stereotactic radiotherapy as a promising brain tumour treatment," *Phys. Med.* **24**, 92–97 (2008).

⁶H. H. Callisen, A. Norman, and F. H. Adams, "Absorbed dose in the presence of contrast agents during pediatric cardiac catheterization," *Med. Phys.* **6**, 504–509 (1979).

⁷R. G. Fairchild and V. P. Bond, "Photon-activation therapy," *Strahlentherapie* **160**, 758–763 (1984).

⁸R. Santos Mello, H. Callisen, J. Winter, A. R. Kagan, and A. Norman, "Radiation dose enhancement in tumors with iodine," *Med. Phys.* **10**, 75–78 (1983).

⁹K. S. Iwamoto, A. Norman, A. R. Kagan, M. Wollin, A. Olch, J. Bellotti, M. Ingram, and R. G. Skillen, "The CT scanner as a therapy machine," *Radiother. Oncol.* **19**, 337–343 (1990).

¹⁰S. T. Cochran, K. Iwamoto, J. Winter, and A. Norman, "Radiation dose enhancement with iodine in brain tumors," *Med. Phys.* **13**, 615 (1986).

¹¹K. S. Iwamoto, S. T. Cochran, J. Winter, E. Holburt, R. T. Higashida, and A. Norman, "Radiation dose enhancement therapy with iodine in rabbit VX-2 brain tumors," *Radiother. Oncol.* **8**, 161–170 (1987).

¹²K. S. Iwamoto, A. Norman, D. B. Freshwater, M. Ingram, and R. G. Skillen, "Diagnosis and treatment of spontaneous canine brain-tumors with a CT scanner," *Radiother. Oncol.* **26**, 76–78 (1993).

¹³A. Norman, M. Ingram, R. G. Skillen, D. B. Freshwater, K. S. Iwamoto, and T. Solberg, "X-ray phototherapy for canine brain masses," *Radiat. Oncol. Invest.* **5**, 8–14 (1997).

¹⁴J. H. Rose, A. Norman, M. Ingram, C. Aoki, T. Solberg, and A. Mesa, "First radiotherapy of human metastatic brain tumors delivered by a computerized tomography scanner (CTRx)," *Int. J. Radiat. Oncol., Biol., Phys.* **45**, 1127–1132 (1999).

¹⁵T. D. Solberg, K. S. Iwamoto, and A. Norman, "Calculation of radiation dose enhancement factors for dose enhancement therapy of brain tumours," *Phys. Med. Biol.* **37**, 439–443 (1992).

¹⁶A. V. Mesa, A. Norman, T. D. Solberg, J. J. Demarco, and J. B. Smathers, "Dose distributions using kilovoltage x-rays and dose enhancement from iodine contrast agents," *Phys. Med. Biol.* **44**, 1955–1968 (1999).

¹⁷J. F. Adam, A. Joubert, M. C. Biston, A. M. Charvet, M. Peoc'h, J. F. Le Bas, J. Balosso, F. Esteve, and H. Elleaume, "Prolonged survival of Fischer rats bearing F98 glioma after iodine-enhanced synchrotron stereotactic radiotherapy," *Int. J. Radiat. Oncol., Biol., Phys.* **64**, 603–611 (2006).

¹⁸J. F. Adam, M. C. Biston, A. Joubert, A. M. Charvet, J. F. Le Bas, F. Esteve, and H. Elleaume, "Enhanced delivery of iodine for synchrotron stereotactic radiotherapy by means of intracarotid injection and blood-brain barrier disruption: Quantitative iodine biodistribution studies and associated dosimetry," *Int. J. Radiat. Oncol., Biol., Phys.* **61**, 1173–1182 (2005).

¹⁹J. F. Adam, H. Elleaume, A. Joubert, M. C. Biston, A. M. Charvet, J. Balosso, J. F. Le Bas, and F. Esteve, "Synchrotron radiation therapy of malignant brain glioma loaded with an iodinated contrast agent: First trial on rats bearing F98 gliomas," *Int. J. Radiat. Oncol., Biol., Phys.* **57**, 1413–1426 (2003).

²⁰M. C. Biston, A. Joubert, J. F. Adam, H. Elleaume, S. Bohic, A. M. Charvet, F. Esteve, N. Foray, and J. Balosso, "Cure of Fisher rats bearing radioresistant F98 glioma treated with cis-platinum and irradiated with monochromatic synchrotron X-rays," *Cancer Res.* **64**, 2317–2323 (2004).

²¹C. Boudou, J. Balosso, F. Esteve, and H. Elleaume, "Monte Carlo dosimetry for synchrotron stereotactic radiotherapy of brain tumours," *Phys. Med. Biol.* **50**, 4841–4851 (2005).

²²C. Boudou, I. Tropres, J. Rousseau, L. Lamalle, J. F. Adam, F. Esteve, and H. Elleaume, "Polymer gel dosimetry for synchrotron stereotactic radiotherapy and iodine dose-enhancement measurements," *Phys. Med. Biol.* **52**, 4881–4892 (2007).

²³Y. Prezado, G. Fois, M. Edouard, C. Nemoz, M. Renier, H. Requardt, F. Esteve, J. F. Adam, H. Elleaume, and A. Bravin, "Biological equivalent dose studies for dose escalation in the stereotactic synchrotron radiation therapy clinical trials," *Med. Phys.* **36**, 725–733 (2009).

²⁴L. S. Waters, G. W. McKinney, J. W. Durkee, M. L. Fensin, J. S. Hendricks, M. R. James, R. C. Johns, and D. B. Pelowitz, "The MCNPX

- Monte Carlo radiation transport code," presented at the Proceedings of the Hadronic Shower Simulation Workshop, Batavia, IL, 2006 (unpublished).
- ²⁵<https://mcnpx.lanl.gov/>
- ²⁶L. G. Bouchet, W. E. Bolch, D. A. Weber, H. L. Atkins, and J. W. Poston, "A revised dosimetric model of the adult head and brain," *J. Nucl. Med.* **37**, 1226–1236 (1996).
- ²⁷R. S. Snyder, M. R. Ford, and G. G. Warner, "Estimate of specific absorbed fractions for photon sources uniformly distributed in various organs of a heterogeneous phantom," MIRD Pamphlet No. 5 (Society of Nuclear Medicine, New York, NY, 1978).
- ²⁸O. K. Harling, K. A. Roberts, D. J. Moulin, and R. D. Rogus, "Head phantoms for neutron-capture therapy," *Med. Phys.* **22**, 579–583 (1995).
- ²⁹ICRU, "Photon, electron, proton and neutron interaction data for body tissues," ICRU Report No. 46 (ICRU, Bethesda, MD, 1992).
- ³⁰F. Verhaegen, A. E. Nahum, S. Van de Putte, and Y. Namito, "Monte Carlo modeling of radiotherapy kV x-ray units," *Phys. Med. Biol.* **44**, 1767–1789 (1999).
- ³¹F. Verhaegen, B. Reniers, F. Deblois, S. Devic, J. Seuntjens, and D. Hristov, "Dosimetric and microdosimetric study of contrast-enhanced radiotherapy with kilovolt x-rays," *Phys. Med. Biol.* **50**, 3555–3569 (2005).
- ³²S. Chiavassa, I. Aubineau-Laniece, A. Bitar, A. Lisbona, J. Barbet, D. Franck, J. R. Jourdain, and M. Bardies, "Validation of a personalized dosimetric evaluation tool (Oedipe) for targeted radiotherapy based on the Monte Carlo MCNPX code," *Phys. Med. Biol.* **51**, 601–616 (2006).
- ³³S. Chiavassa, M. Bardies, F. Guiraud-Vitoux, D. Bruel, J. R. Jourdain, D. Franck, and I. Aubineau-Laniece, "OEDIPE: A personalized dosimetric tool associating voxel-based models with MCNPX," *Cancer Biother. Radiopharm.* **20**, 325–332 (2005).
- ³⁴B. Emami, J. Lyman, A. Brown, L. Coia, M. Goitein, J. E. Munzenrider, B. Shank, L. J. Solin, and M. Wesson, "Tolerance of normal tissue to therapeutic irradiation," *Int. J. Radiat. Oncol., Biol., Phys.* **21**, 109–122 (1991).
- ³⁵J. Rousseau, J. F. Adam, P. Deman, T. D. Wu, J. L. Guerquin-Kern, B. Gouget, R. F. Barth, F. Esteve, and H. Elleaume, "Intracerebral delivery of 5-iodo-2'-deoxyuridine in combination with synchrotron stereotactic radiation for the therapy of the F98 glioma," *J. Synchrotron Radiat.* **16**, 573–581 (2009).
- ³⁶J. Rousseau, C. Boudou, R. F. Barth, J. Balosso, F. Esteve, and H. Elleaume, "Enhanced survival and cure of F98 glioma-bearing rats following intracerebral delivery of carboplatin in combination with photon irradiation," *Clin. Cancer Res.* **13**, 5195–5201 (2007).
- ³⁷G. Le Duc, S. Corde, A. M. Charvet, H. I. N. Elleaume, N. Farion, J. F. Le Bas, and F. Esteve, "In vivo measurement of gadolinium concentration in a rat glioma model by monochromatic quantitative computed tomography—Comparison between gadopentetate dimeglumine and gadobutrol," *Invest. Radiol.* **39**, 385–393 (2004).
- ³⁸C. Alric, R. Serduc, C. Mandon, J. Taleb, G. Le Duc, A. Le Meur-Herland, C. Billotey, P. Perriat, S. Roux, and O. Tillement, "Gold nanoparticles designed for combining dual modality imaging and radiotherapy," *Gold Bull.* **41**, 90–97 (2008).
- ³⁹C. Alric, J. Taleb, G. Le Duc, C. Mandon, C. Billotey, A. Le Meur-Herland, T. Brochard, F. Vocanson, M. Janier, P. Perriat, S. Roux, and O. Tillement, "Gadolinium chelate coated gold nanoparticles as contrast agents for both x-ray computed tomography and magnetic resonance imaging," *J. Am. Chem. Soc.* **130**, 5908–5915 (2008).
- ⁴⁰J. F. Hainfeld, F. A. Dilmanian, D. N. Slatkin, and H. M. Smilowitz, "Radiotherapy enhancement with gold nanoparticles," *J. Pharm. Pharmacol.* **60**, 977–985 (2008).
- ⁴¹A. Drevelegas, *Imaging of Brain Tumors with Histological Correlations* (Springer-Verlag, Berlin, 2002).
- ⁴²N. J. Patronas, in *Imaging of Brain Tumors with Histological Correlations*, edited by A. Drevelegas (Springer-Verlag, Berlin, 2002), pp. 253–276.
- ⁴³S. Corde, A. Joubert, J. F. Adam, A. M. Charvet, J. F. Le Bas, F. Esteve, H. Elleaume, and J. Balosso, "Synchrotron radiation-based experimental determination of the optimal energy for cell radiotoxicity enhancement following photoelectric effect on stable iodinated compounds," *Br. J. Cancer* **91**, 544–551 (2004).
- ⁴⁴S. Manolopoulos, C. Wojnecki, S. Green, R. P. Hugtenburg, and B. Jones, "Treatment planning for a synchrotron-based radiotherapy modality," *Appl. Radiat. Isot.* **67**, 492–494 (2009).
- ⁴⁵J. L. Robar, S. A. Riccio, and M. A. Martin, "Tumour dose enhancement using modified megavoltage photon beams and contrast media," *Phys. Med. Biol.* **47**, 2433–2449 (2002).
- ⁴⁶K. Pasciuti, G. Iaccarino, A. Soriani, V. Bruzzaniti, S. Marzi, S. Gomellini, S. Arcangeli, M. Benassi, and V. Landoni, "DVHs evaluation in brain metastases stereotactic radiotherapy treatment plans," *Radiother. Oncol.* **87**, 110–115 (2008).
- ⁴⁷M. Renier, T. Brochard, C. Nemoz, H. Requardt, E. Brauer, F. Esteve, J. Balosso, P. Suortti, J. Baruchel, H. Elleaume, G. Berruyer, P. Berkvens, and A. Bravin, "The radiotherapy clinical trials projects at the ESRF: Technical aspects," *Eur. J. Radiol.* **68**, S147–S150 (2008).

Annexe C

Étude microdosimétrie de Caroline Boudou

Cette étude dosimétrique traite de la géométrie d'irradiation utilisée lors des expériences rapportées dans un article de l'équipe U836 [Joubert et al., 2005]. Cet article porte sur l'étude des effets biologiques induits par un agent de contraste iodé (ACI) susceptible d'être utilisé en RSRS.

Dans cette publication, l'identification et l'influence des produits résultants de la radiolyse de l'agent de contraste ont été évaluées *in vitro*. Une première série d'expériences a été menée pour évaluer l'influence de la présence d'ACI (en concentrations variables) sur la survie cellulaire. Pour ce type de mesure, les cellules en suspension dans du milieu de culture (avec ou sans ajout d'ACI) sont irradiées. En outre, une mesure comparative des cassures double-brin¹ de l'ADN est proposée lorsque le milieu de culture contient une solution normale ou iodée à hauteur de 10 mg/ml. Pour réaliser ces mesures, il est nécessaire de fixer les cellules sur une lamelle afin de les observer ensuite au microscope. Les lamelles utilisées lors de ces expériences sont en verre. Or plusieurs publications ont été le sujet d'études dosimétriques aux interfaces de milieux de densités électroniques différentes en biologie [Verhaegen and Seuntjens, 1994, Verhaegen and Seuntjens, 1995, Regulla et al., 2001, Regulla et al., 2002]. Les calculs présentés ici mettent en évidence le rôle de la géométrie d'irradiation (à basse énergie) lorsque le volume d'intérêt a des dimensions microscopiques (dépôt d'énergie et équilibre électronique).

Les codes MCNP et MCNPX ont déjà été utilisés et/ou vérifiés dans le cadre de calculs dans de très petites géométries (dimension d'une cellule, i.e. une dizaine de microns) [Joneja et al., 2003, Pignol et al., 2003, Reniers et al., 2004a, Clarke and Jevremovic, 2005]. Le premier paragraphe reporte une étude de validité du code (avec MCNPX version 2.5f) dans de microvolumes, pour notre configuration particulière. Ensuite, la géométrie des calculs est décrite. Finalement, l'énergie déposée dans les microvolumes est présentée pour différents cas de figure et une analyse spectrale du rayonnement vu par les cellules est proposée pour interpréter les résultats.

C.1 Validation du code pour la dosimétrie dans des microvolumes

Bien que les sous-étapes en énergie aient été réduites selon les recommandations du manuel d'utilisation du code, les discontinuités de surfaces peuvent induire des biais dans le calcul. Afin d'évaluer l'importance de ce biais potentiel, l'énergie déposée sur une épaisseur

1. Cassures de l'ADN responsables de mutation et/ou de la mort cellulaire.

donnée L a été enregistrée par pas de $L/1000$ puis cumulée. Pour des photons incidents de 50 keV, deux épaisseurs ont été étudiées :

- cas 1 : $L=1$ cm, pas de 10 μm pour une surface de $1 \times 1 \text{ mm}^2$, {ESTEP =6};
- cas 2 : $L=1$ mm, pas de 1 μm , pour une surface de $1 \times 1 \text{ mm}^2$, {ESTEP=61}.

La somme des énergies cumulées dans les microvolumes devrait être égale (aux fluctuations statistiques près) à l'énergie enregistrée dans le (macro) volume équivalent. Les résultats sont reportés dans le Tableau C.1.

	volume en cm^3 (épaisseur \times largeur \times hauteur)	énergie moyenne déposée par photon incident dans le volume entier [keV]	incertitude relative
cas 1			
macro	$1 \times 0,1 \times 0,1$	1,8295	0,0013
micro	$(0,001 \times 0,1 \times 0,1) \times 1000$	1,8055	0,0012
cas 2			
macro	$0,1 \times 0,1 \times 0,1$	0,20410	0,0041
micro	$(0,0001 \times 0,1 \times 0,1) \times 1000$	0,20070	0,00175

Tableau C.1 – Résultats des calculs micro et macroscopique avec MCNPX.

La différence relative entre les calculs microscopiques et macroscopiques est de 1,3% et 1,7% respectivement pour les deux cas, ce qui reste acceptable bien que supérieur aux fluctuations statistiques (1 sigma). Les deux valeurs restent significativement différentes si l'on considère 95% de confiance.

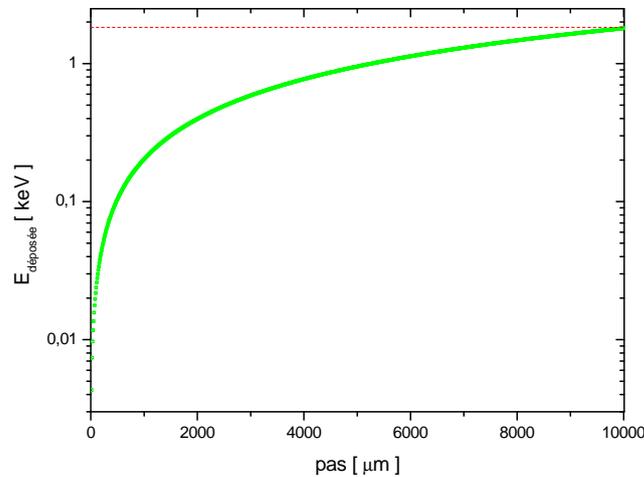


Figure C.1 – Energie déposée cumulée dans des 1000 microvolumes de 10 μm d'épaisseur (points verts). La valeur de l'énergie déposée dans un seul volume (macro) de dimension équivalente aux 1000 microvolumes est représentée par la droite hachurée.

C.2 Géométrie et paramètres de calculs

C.2.1 Géométrie d'irradiation expérimentale

Dans le cas expérimental d'étude des cassures double-brin, des cellules adhérentes sont déposées sur une lame de verre ($2 \times 2 \text{ cm}^2$), elle-même posée sur la face intérieure d'une boîte plastique contenant du milieu de culture ou du milieu de culture iodé à hauteur de 10 mg/ml. Le milieu de culture a été modélisé comme de l'eau puis comme une solution

aqueuse iodée dans le cas où une quantité d'ACI était ajoutée. Le côté sur lequel la lame de verre adhère fait face au rayonnement (C.2).

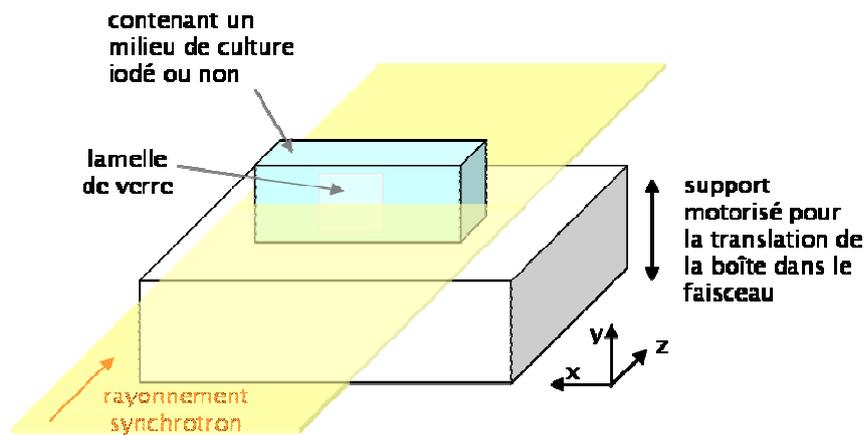


Figure C.2 – Configuration d'irradiation avec le rayonnement synchrotron des cellules fixées sur une lame de verre et placée dans une boîte de plastique contenant du milieu de culture (iodé ou non).

Les cellules (composition moyenne d'une cellule relevé dans [ICRU 1992]) ont été représentées par des demi-sphères de 5 μm de rayon placées en quinconce ou juxtaposées, dans une couche de 10 μm d'épaisseur et de 1 \times 1 mm de côté (C.3). Dans cette couche, le paramètre de sous-étape en énergie des électrons a été augmenté. La lame de verre de 200 μm d'épaisseur et de 2 cm de côté a été positionnée directement sur une face interne de la boîte. Les dimensions géométriques réelles de la boîte et des cales en plastique ont été reproduites dans le modèle. Afin d'estimer l'influence des rayonnements diffusés sur l'énergie déposée dans les cellules, plusieurs simulations de la couche de cellules ont été réalisées à différentes profondeurs dans la boîte (selon l'axe z de propagation du faisceau cf. Figure C.2 et Figure C.3). Le cas expérimental des irradiations de cellules en suspension est représenté lorsque la couche de cellule se trouve au milieu de la boîte.

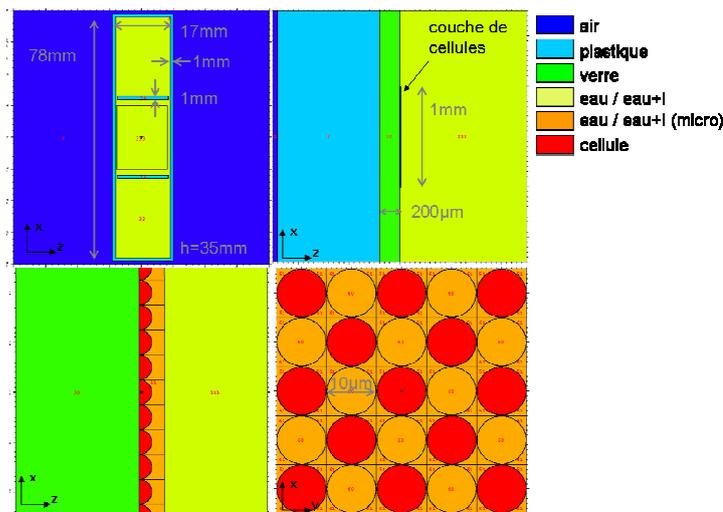


Figure C.3 – Schémas de la géométrie décrite dans MCNP pour modéliser l'expérience. Le milieu de culture est soit de l'eau soit une solution d'iode à 10 mg/ml. Le qualificatif « micro » indique que le nombre de sous-étapes en énergie pour les électrons a été augmenté. Le dispositif illustre ici un arrangement en quinconce des cellules. La couche de cellule a été placée à différentes positions selon l'axe z dans la boîte pour simuler différents cas théoriques servant à la discussion.

C.2.2 Paramètres de calculs pour les électrons

La géométrie met en jeu de très petites distances. Ainsi, le nombre de sous-étapes en énergie nécessaire à une description correcte des interactions dans les microvolumes a été calculé (cf. C.1). La longueur minimale considérée dans la géométrie a été choisie égale à 1 μm .

matériau	Drange [g / cm ²]	l_{substep} [μm]	ρ [g/cm ³]	m = ESTEP
eau	$6,10 \cdot 10^{-4}$	0,1	1	61
eau + 10 mg/ml iode	$6,13 \cdot 10^{-4}$	0,1	1,01	61
verre (pyrex)	$7,47 \cdot 10^{-4}$	20	2,23	4 (ESTEP par défaut)
cellule	$6,08 \cdot 10^{-4}$	0,1	1,01	60

Tableau C.2 – Nombre de sous-étapes de calcul (ESTEP) nécessaires pour des électrons d'énergie cinétique égale à 50 keV.

C.3 Énergies déposées dans les différentes configurations

L'énergie déposée a été comptée dans chaque cellule, la somme des énergies déposées dans chacune des cellules a été également comptabilisée pour 5000 éléments (cas 1, cellules en quinconce) et 10000 éléments (cas 2, cellules juxtaposées), avec leurs incertitudes statistiques associées. Dans le cas où plusieurs simulations de la même configuration ont été réalisées, les résultats ont été moyennés et les incertitudes combinées. Dans tous les cas, le nombre de photons source générés était compris entre $5 \cdot 10^6$ et $15 \cdot 10^6$. La différence de résultat entre la géométrie quinconce et la géométrie juxtaposée ne sort pas de l'incertitude statistique ; ces résultats ont donc été regroupés. Les différentes configurations dont il est question dans un premier temps sont décrites dans le Tableau C.3.

numéro	1	2	3	4
nombre de simulations moyennées	4	2	4	3

Configuration 1, 2, 3 et 4 de gauche à droite :

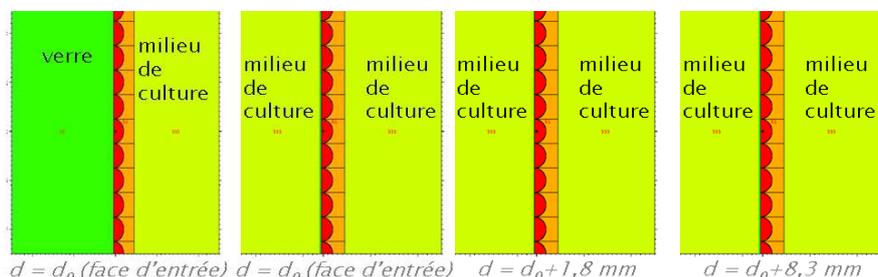


Tableau C.3 – Configurations modélisées pour le calcul du dépôt d'énergie moyen dans les cellules (le milieu de culture est représenté par de l'eau ou de l'eau iodée).

C.3.1 Comparaison des énergies moyennes déposées dans un microvolume

L'énergie moyenne déposée dans une cellule, reportée sur la Figure C.4 pour différentes configurations est variable en fonction de la position de la couche de cellules dans la boîte.

L'énergie moyenne déposée en face d'entrée, lorsque les cellules sont contre la lame de verre, est nettement supérieure à celle des autres configurations et notamment du cas n°2, qui ne diffère que par la matière de la lame de support. Cela laisse supposer que le verre n'a pas un rôle neutre pendant l'irradiation.

Dans tous les cas, l'énergie déposée lorsque le milieu de culture est iodé est plus élevée que si le milieu est constitué d'eau. Ce résultat était attendu car les atomes d'iode irradiés à 50 keV se comportent comme des sources secondaires de rayonnement (fluorescence, photoélectron). Il est notable cependant que la différence entre les deux dépôts moyen d'énergie soit moins significative pour la configuration numéro 1.

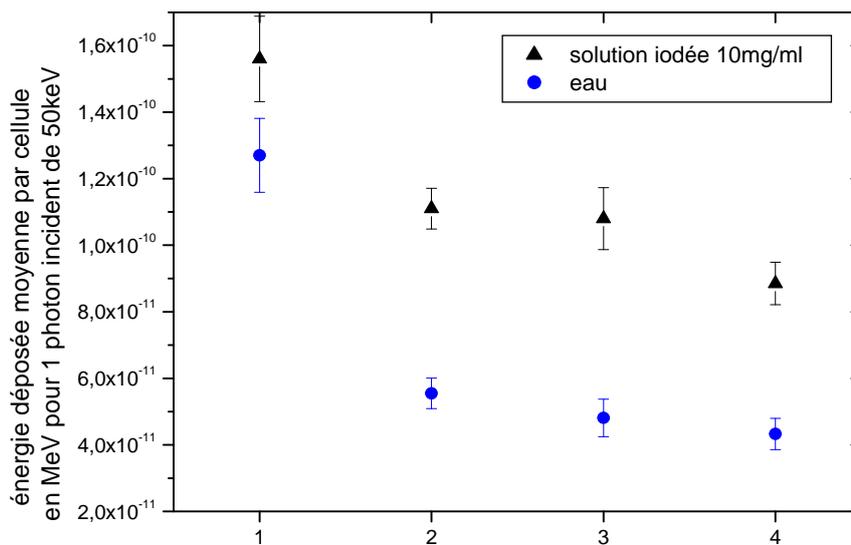


Figure C.4 – Energie moyenne déposée dans une cellule pour les différentes configurations du Tableau C.3.

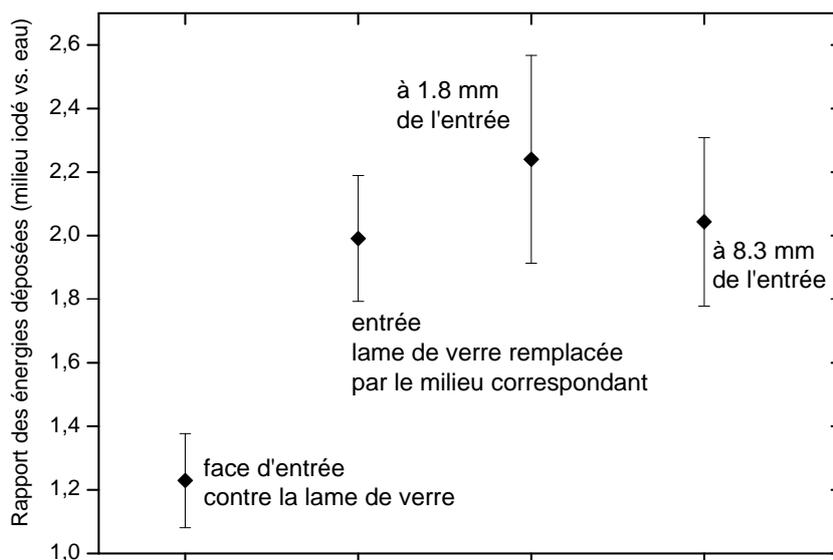


Figure C.5 – Rapport des énergies déposées moyennes dans une cellule pour différentes configurations.

Le calcul des rapports des énergies déposées (RED) entre les deux jeux de configurations (eau et solution d'iode) permet de s'affranchir de la masse du volume considéré (Figure C.5). Le RED dans un microvolume n'est pas constant à travers la boîte et diffère du rapport d'augmentation de dose calculé pour la boîte entière, qui atteint la valeur de 2,5 dans toutes les configurations explorées. En effet, le dépôt d'énergie calculé pour le volume entier représente une moyenne des différents effets physiques se produisant dans la boîte (diffusions, absorption, fluorescence). Celui calculé dans le microvolume est représentatif de sa localisation précise : l'énergie qui y est déposée dépend des phénomènes d'absorption et de diffusion (Compton essentiellement) ayant eu lieu autour de cet endroit précis, qu'il soit en état d'équilibre électronique ou non.

D'après les résultats présentés (Figure C.5), le RED calculé en face d'entrée si la lame est constituée de verre (configuration 1) est significativement inférieur à ceux calculés lorsque la couche de cellules baigne dans le milieu de culture. Cela peut s'expliquer essentiellement par la géométrie : le milieu baignant est vu par la couche de cellules sur une face, et non deux comme dans les autres cas. Le milieu diffusant n'étant pas le même de part et d'autre, le champ de radiation est certainement différent. C'est ce qui est exploré dans le paragraphe suivant.

Il faut noter que les valeurs moyennes d'énergie déposée sont plutôt représentatives de quelques gros dépôts d'énergie qui masquent les petits, pourtant largement majoritaires. Les gros dépôts sont en général le résultat d'une seule interaction ayant eu lieu dans une cellule. Si l'énergie moyenne d'un petit dépôt vaut 1, celle d'un gros dépôt vaut entre 108 et 109 fois plus. Dans tous les cas, les petits dépôts représentent plus de 80% des dépôts d'énergie en nombre (Figure C.6). Les spectres en énergie de ces petits dépôts sont assez semblables quelle que soit la configuration. La présence de la lame de verre modifie clairement la répartition des dépôts d'énergie et masque les différences qui pourraient exister entre le cas où les cellules sont baignées dans un milieu de culture normal ou iodé.

C.3.2 Influence de la lame de verre

Afin de comprendre pourquoi l'énergie moyenne déposée dans les cellules lorsque celles-ci se trouvent sur la lame de verre, est particulièrement élevée, les interactions mises en jeu sont étudiées dans ce paragraphe (Figure C.7 Tableau C.4).

Pour des photons monoénergétiques de 50 keV, l'effet Compton est dominant dans les deux matériaux avec un facteur 1,43 pour le verre et 6,62 pour l'eau par rapport à l'effet photoélectrique. Les électrons Compton produits pour des photons de 50 keV ont au maximum une énergie de 8,1 keV, ce qui correspond à un parcours dans l'eau d'environ 1,7 μm .

A 50 keV, l'effet photoélectrique dans le verre est 9 fois plus probable que dans l'eau. Les photoélectrons produits dans le verre ont un spectre d'énergie allant de 46,39 à 48,93 keV correspondant à des parcours de l'ordre de 40 à 50 μm . Ces derniers ont plus de chance d'atteindre les cellules posées sur le verre que les électrons Compton. Il est possible que le surplus d'énergie déposée dans les cellules soit essentiellement dû aux photoélectrons (plus énergétiques) créés dans la lame de verre.

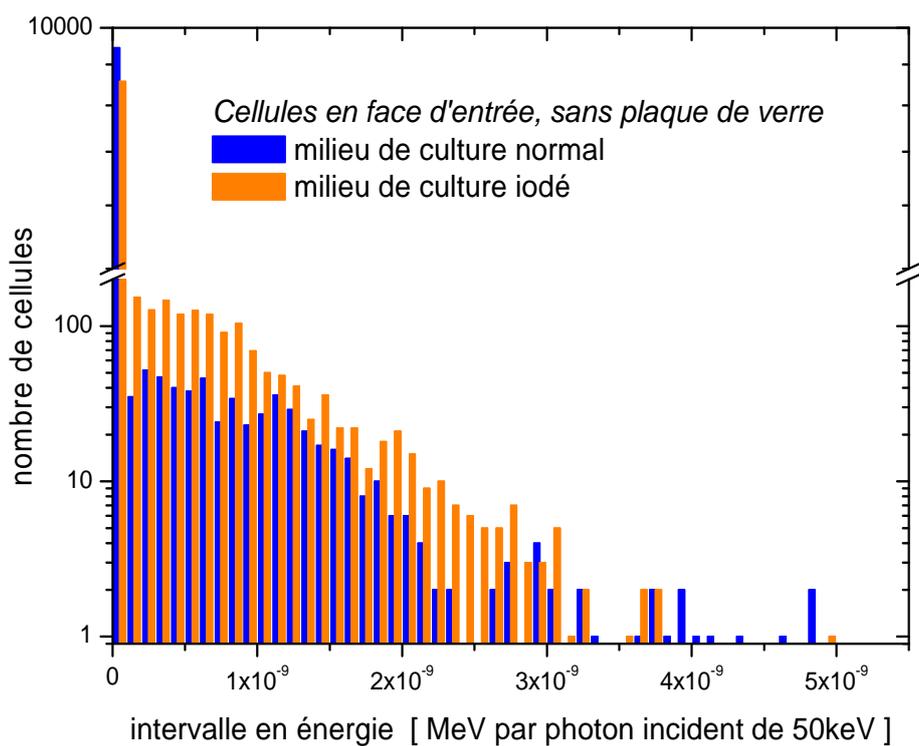
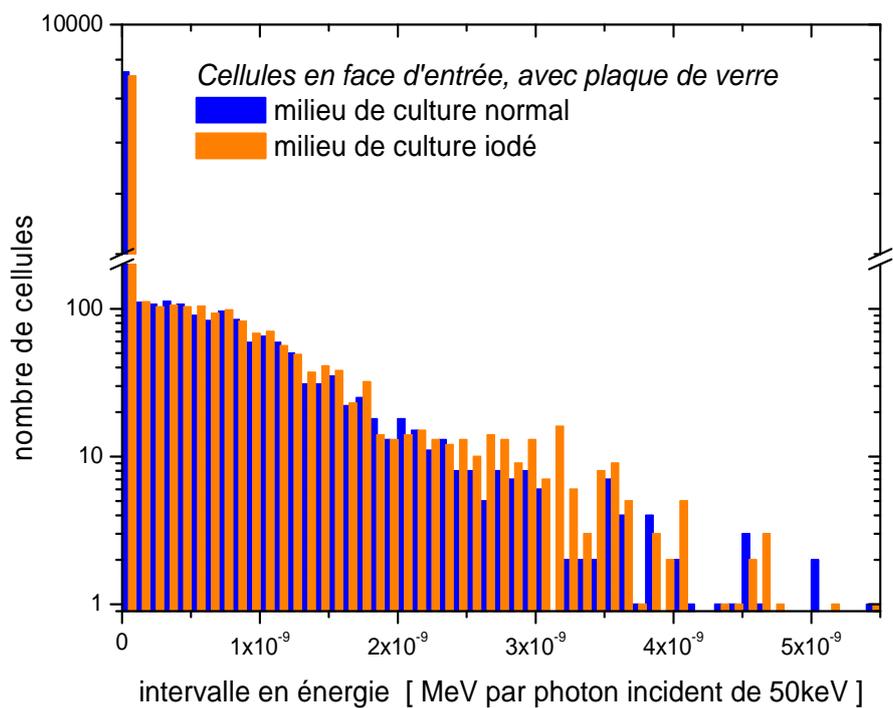


Figure C.6 – Histogrammes des dépôts d'énergie dans les cellules lorsque qu'elles sont collées sur la lame de verre en entrée (à gauche) et dans le cas où la lame de verre est remplacée par le milieu de culture correspondant (à droite). Pour chaque cas, les spectres sont présentés avec le milieu de culture normal et le milieu de culture contenant 10 mg/ml d'iode.

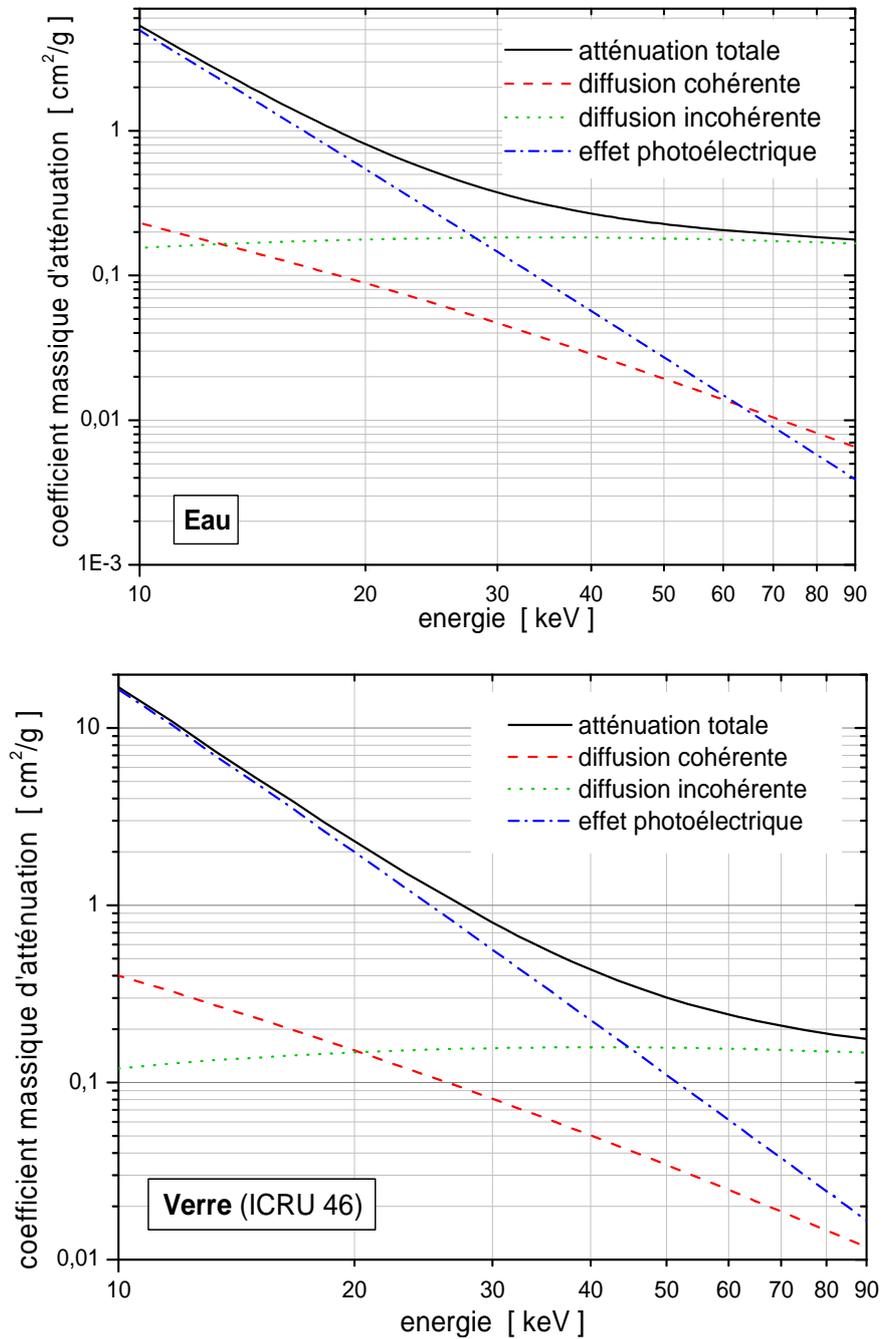


Figure C.7 – Coefficients d’atténuation massique pour chacune des interactions rencontrées dans le domaine des photons de 10 à 90 keV dans l’eau (en haut) et dans le verre (en bas).

sections efficaces [cm-1]	Diff. cohérente	Compton	Photoélectrique	Atténuation totale	transmission pour 200 μm
verre	0,0765	0,3501	0,2453	0,6735	$98,6621 \cdot 10^{-2}$
eau	0,0194	0,1800	0,0272	0,2270	$99,5057 \cdot 10^{-2}$

nombres d'événements		sur 200 μm			
verre	$0,1530 \cdot 10^{-2}$	$0,7002 \cdot 10^{-2}$	$0,4906 \cdot 10^{-2}$	$1,3469 \cdot 10^{-2}$	
eau	$0,0388 \cdot 10^{-2}$	$0,3600 \cdot 10^{-2}$	$0,0544 \cdot 10^{-2}$	$0,0453 \cdot 10^{-2}$	

Tableau C.4 – Probabilité des différentes interactions pour des photons de 50 keV dans l'eau et le verre (densité = 2,23) ainsi que le nombre d'événements associés à la traversée de 200 μm de matière dans chaque cas.

Les calculs Monte-Carlo nous permettent aussi d'extraire des informations spectrales sur le rayonnement traversant une surface particulière. La Figure C.8 représente les spectres des électrons traversant le plan en contact avec les cellules, lorsque la couche de cellules est sur la lame de verre et lorsqu'elle se trouve au milieu de la boîte (soit la configuration 4 du Tableau C.3). La comparaison des deux graphes indique en premier lieu que le rayonnement électronique est très différent selon que l'on se place en sortie de la lame de verre ou au milieu de la boîte. Comme le laissaient supposer les remarques précédentes, la présence d'électrons de haute énergie est plus importante en sortie de la lame de verre alors que les énergies des électrons sont plutôt équiréparties en milieu de boîte. Par ailleurs, que le milieu ambiant soit de l'eau ou une solution d'iode, le spectre et le nombre des électrons sont tous deux semblables dans le cas où les cellules sont posées sur la lame de verre. Par contre, si l'allure des spectres est la même lorsque les cellules sont au milieu de la boîte, le nombre d'électrons est significativement plus élevé lorsque le milieu ambiant est iodé. L'électron étant le vecteur du dépôt d'énergie, cela semble expliquer pourquoi l'énergie déposée en moyenne dans les cellules est plus grande lorsque le milieu est iodé.

Le spectre des photons (Figure C.9) qui traversent la couche de cellules est représenté dans le cas où le milieu est une solution d'iode, si les cellules sont en face d'entrée et si les cellules sont au centre de la boîte. On remarque l'absence (en tout cas la très faible probabilité de présence $<1/30000$) des photons de fluorescence de l'iode si les cellules se trouvent contre la lame de verre. Ce spectre montre que même le champ de radiation des photons est différent en entrée et au milieu de la boîte, dans le cas où le milieu contient des atomes lourds comme l'iode.

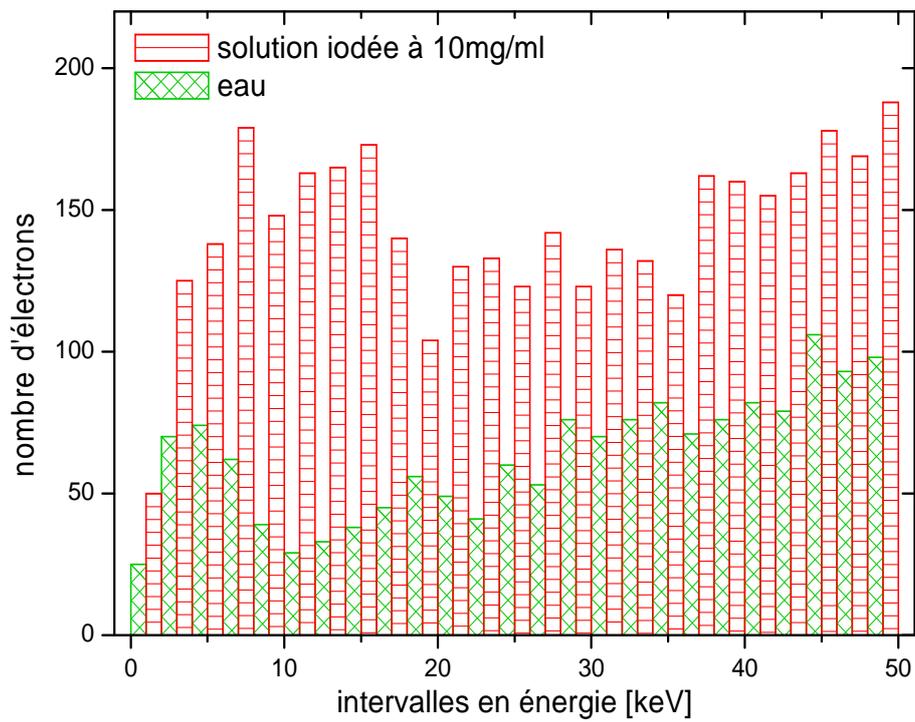
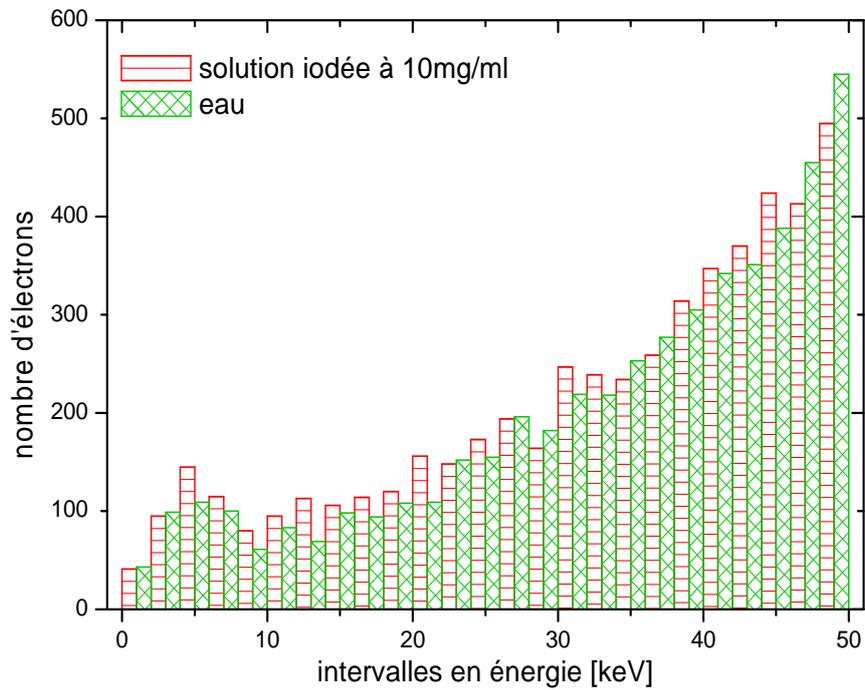


Figure C.8 – Spectres des électrons traversant la surface "d'entrée" de la couche de cellules lorsque celle-ci se trouve contre la plaque de verre (à gauche) et au milieu de la boîte (à droite) pour le même nombre de photons incidents.

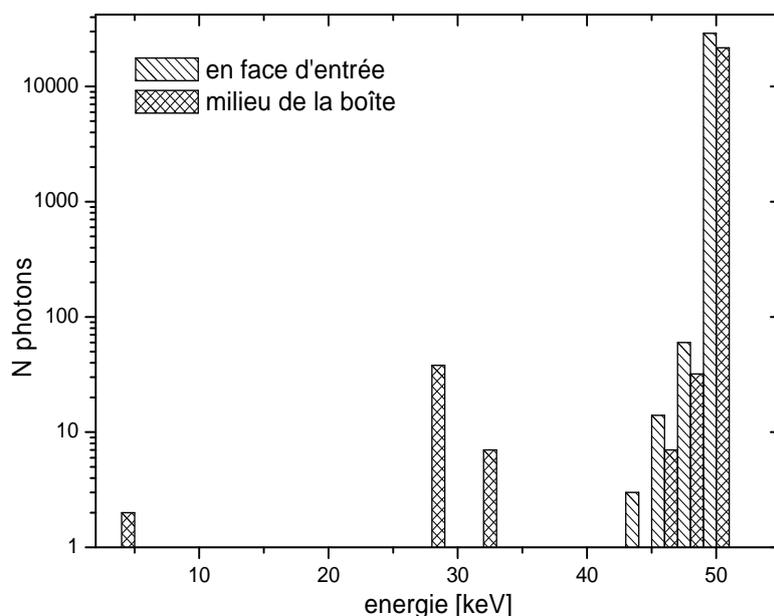


Figure C.9 – Spectre des photons traversant la couche de cellule lorsque celle-ci est placée en face d’entrée ou au milieu de la boîte.

C.4 Conclusion et discussion

L’étude dosimétrique reportée ici semble indiquer que le procédé de fixation des cellules sur une lame de verre modifie notablement le spectre électronique par rapport à une configuration de cellules baignant dans un milieu homogène. En effet, les photoélectrons issus du verre (très énergétiques), causent localement de plus gros dépôts d’énergie. De plus, cette configuration paraît masquer les éventuelles différences qui pourraient exister en terme de dépôt d’énergie dans les cellules entre un milieu ambiant normal ou chargé en iode. Il paraît donc difficile de comparer directement les résultats biologiques obtenus dans ces deux configurations expérimentales différentes (cellules sur lame de verre pour l’étude des cassures de l’ADN et cellules en suspension pour l’étude de la survie cellulaire). La technique utilisée pour identifier les cassures double-brin ne permettait peut être pas de mettre en évidence l’augmentation d’énergie déposée (milieu de culture iodé vs. non iodé) quand les cellules sont fixées sur la lame de verre. Ce rapport des énergies déposées n’est que de 1,23 alors qu’il pourrait atteindre la valeur 2 si les cellules étaient placées dans un milieu homogène (Figure C.5).

Ces résultats dosimétriques pourraient être approfondis par une véritable étude de microdosimétrie, mais le code MCNPX n’est pas véritablement adapté à l’étude fine des micro-dépôts. En effet, il est préférable d’utiliser un code capable de modéliser chacune des interactions subies par un électron, avec des tables de sections efficaces atteignant les plus faibles énergies disponibles (même si ces sections efficaces sont parfois entachées de grandes incertitudes). Le code généraliste PENELOPE [Salvat et al., 2009] pourrait convenir dans une certaine mesure ou bien un code développé pour des applications en microdosimétrie comme celui de Lappa et al. [Verhaegen et al., 2005, Lappa et al., 1993]. Quant à l’étude des interactions au sein de l’ADN, c’est un domaine à part que l’on pourrait qualifier de « nanodosimétrie » et pour lequel la modélisation de la structure de l’ADN et de sa conformation est aussi importante que la modélisation des interactions elles-mêmes.

Annexe D

Coordonnées des membres du jury

– Brigitte Reniers
Medical Physicist Maastrro Clinic Dr. Tanslaan
12 6229 ET Maastricht PAYS-BAS
+31 (0) 88 44 55 803
brigitte.reniers@maastro.nl

– Nicolas Freud
INSA CNDRI Bât. Saint-Exupéry
20 avenue A. Einstein
69621 Villeurbanne
+33 (0)4 72 43 62 99
nicolas.freud@insa-lyon.fr

– Jean-François Le Bas
Unité IRM - CHU de Grenoble
38 043 Grenoble
+33 (0)4 76 76 57 39
JFLeBas@chu-grenoble.fr

– Claude le Sech Bâtiment 351
Université Paris Sud
91405 Orsay
+33 (0)1 69 15 78 18
claude.lesech@u-psud.fr

– Jean Colin
6, boulevard du Maréchal Juin
14 050 Caen
+33 (0)2 31 45 29 70
colin@in2p3.fr

– Hélène Elleaume
INSERM U-836 Equipe 6
38043 Grenoble
+33 (0)4 76 88 23 43
h.elleaume@esrf.fr

– Mehdi Gmar
CEA/Direction de la recherche technologique
CEA - LIST/DeTeCS/SSTM/L2MA
CEA/Saclay bât. 516
91191 Gif-sur-Yvette
+33 (0)1 69 08 39 45
mehdi.gmar@cea.fr

