



HAL
open science

Évaluation, à partir de modélisations nanodosimétriques, de l'influence de la compaction de la chromatine sur les effets radio-induits précoces et extension aux effets tardifs (réparation des dommages à l'ADN et mort cellulaire).

Nicolas Tang

► **To cite this version:**

Nicolas Tang. Évaluation, à partir de modélisations nanodosimétriques, de l'influence de la compaction de la chromatine sur les effets radio-induits précoces et extension aux effets tardifs (réparation des dommages à l'ADN et mort cellulaire).. Astrophysique [astro-ph]. Université de Bordeaux, 2019. Français. NNT: 2019BORD0160 . tel-02399525

HAL Id: tel-02399525

<https://theses.hal.science/tel-02399525>

Submitted on 9 Dec 2019

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.

THÈSE DE DOCTORAT

pour obtenir le grade de docteur délivré par

L'UNIVERSITÉ DE BORDEAUX

ÉCOLE DOCTORALE DES SCIENCES PHYSIQUES ET DE L'INGÉNIEUR

Spécialité doctorale : Astrophysique, Plasmas, Nucléaire

Présentée et soutenue publiquement par

NICOLAS TANG

le 02 octobre 2019

**Évaluation, à partir de modélisations nanodosimétriques,
de l'influence de la compaction de la chromatine sur les
effets radio-induits précoces et extension aux effets tardifs
(réparation des dommages à l'ADN et mort cellulaire)**

Composition du Jury :

M. Philippe Moretto	Professeur, U. Bordeaux	Président
Mme Lydia Maigne	Maître de conférences, HDR, U. Clermont Auvergne	Rapporteur
M. François Paris	Directeur de Recherche, Inserm/CRCNA	Rapporteur
Mme Sandrine Lacombe	Professeur, HDR, U. Paris-Saclay	Examinateur
M. Ludovic De Marzi	Physicien, Institut Curie	Examinateur
M. Sébastien Incerti	Directeur de Recherche, HDR, CNRS/IN2P3/CENBG	Directeur
Mme Carmen Villagrasa	Ingénieure-chercheuse, IRSN	Encadrante

**Institut de Radioprotection et de Sûreté Nucléaire
IRSN/PSE-SANTE/SDOS/LDRI**

31 avenue de la Division Leclerc, 92260 Fontenay-aux-Roses, France

Remerciements

Je tiens tout d'abord à adresser mes remerciements aux membres du jury qui ont évalué mes travaux de thèse. Merci à Monsieur Philippe Moretto pour m'avoir fait l'honneur de présider le jury de cette thèse. Merci à Madame Lydia Maigne et à Monsieur François Paris, d'avoir accepté de participer à ce jury en tant que rapporteurs, du temps qu'ils ont consacré et de leurs commentaires. Et enfin, merci à Madame Sandrine Lacombe et à Monsieur Ludovic De Marzi, d'avoir été examinateurs et de l'intérêt porté à mes travaux.

Je tiens également à remercier Guillaume Manificat et Isabelle Clairand pour m'avoir offert la possibilité de réaliser cette thèse au sein du service de recherche en dosimétrie.

J'exprime ma profonde gratitude envers Sébastien Incerti et Carmen Villagrasa. Sébastien, je tiens à te remercier chaleureusement d'avoir dirigé ces travaux, mais également pour ta grande gentillesse, ta disponibilité, tes remarques, et les précieux conseils que tu as pu me fournir durant ces trois années. J'ai beaucoup apprécié ta réactivité et je savais que je pouvais toujours compter sur toi. Carmen, par où commencer ? Je te suis tellement reconnaissant d'avoir encadré ma thèse au quotidien. Toi qui m'as accueilli dès mon stage de Master 2, qui m'a initié aux simulations Monte-Carlo et qui m'a permis de poursuivre sur cette thèse. Je te remercie infiniment pour tout le temps que tu m'as consacré, pour ton soutien sans faille, pour tes qualités scientifiques et pédagogiques, pour m'avoir accordé ta confiance et pour m'avoir laissé travailler en autonomie tout en gardant un regard critique. Durant ces trois années de thèse, il y a eu forcément des hauts et des bas mais tu as toujours été présente pour me rassurer et ce, particulièrement dans les moments les plus difficiles. Cela m'a permis de vivre cette expérience en toute positivité. C'est toujours un plaisir de travailler avec toi.

J'ai également eu la chance de pouvoir bénéficier du soutien de Yann Perrot. Je te remercie vivement Yann, toi qui es arrivé au laboratoire pendant les derniers mois de ma thèse, notamment pour ta participation aux différentes relectures de mon manuscrit. Merci pour tes conseils, ton écoute, tes supers encouragements, et toutes les discussions intéressantes que l'on a pu avoir ensemble. Tu as toujours su faire redescendre la pression et me remettre en confiance dans les moments de doute.

Je tiens aussi à remercier Sylvain Meylan, mon prédécesseur, pour m'avoir transmis des connaissances en programmation mais aussi pour sa gentillesse et les conseils qu'il a pu me donner. Tu m'as montré la voie de la thèse alors que j'étais en stage dans ton bureau. Ton ambition ainsi que ton enthousiasme ont été source de motivation pour moi. Je te suis reconnaissant pour l'attention que tu m'as accordée à la fin de ta thèse. Cela m'a permis de commencer la mienne avec beaucoup d'assurance.

Merci à toutes les personnes avec qui j'ai pu collaborer dans le cadre du programme ROSIRIS : Morgane Dos Santos, Amélie Fréneau, Géraldine Gonon, Gaëtan Gruel, Olivier Guipaud, Fabien Milliat, Vincent Paget, et Aurélie Vaurijoux. Les nombreux échanges que l'on a eus m'ont beaucoup apporté.

Je souhaite également remercier Stéphane Marcand et Véronique Ménard du CEA, pour notre collaboration concernant les irradiations des levures.

C'est de plus grâce aux collègues du laboratoire (LDRI) que cette thèse s'est déroulée dans de très bonnes conditions.

Tout d'abord, un grand merci à Julie Colnot, avec qui j'ai pu partager l'expérience de la thèse. Julie, on se suit encore maintenant et ce, depuis le Master avec, notamment, notre stage de Master 2 que l'on a effectué dans le même bureau. Je souhaite te remercier pour ton amitié, ta gentillesse, ta bonne humeur et ton soutien tout au long de ces trois années et demie. Ça a été un grand plaisir d'avoir vécu ces moments en ta compagnie, comme par exemple les journées des thèses de l'IRSN. Ton entrée remarquable sur les lacs du Connemara restera à jamais gravée dans ma mémoire.

Merci à Thomas Blin, avec qui j'ai pu passer de nombreuses heures à discuter voyages, jeux, films, et autres. Ta joie et ton rituel de blagues vont me manquer. Cela a été génial de t'avoir au laboratoire. Je n'oublierai jamais tous les bons moments passés comme la résolution de dingbats, les montages photos et les moments « trolls ».

Merci aussi à Céline Bassinet et à Christelle Huet pour leur sympathie, leur soutien, et les discussions que l'on a pu avoir notamment pendant la pause déjeuner. C'est aussi grâce à votre implication que nous avons gagné le prix de la meilleure ambiance lors des estivales 2018 de l'IRSN.

Un grand merci également aux autres collègues du laboratoire : Marie-Anne Chevallier, Jacques Debroas, Véronique Lejeune, Miray Razanajatovo, Yoann Ristic, Laurent Van Ryckeghem, et François Trompier.

Je remercie aussi les anciens membres du LDRI : Marta Bueno pour avoir partagé un bout de route de ma thèse, et Marion Baumann pour ses compétences en tant que psychologue. Les anciens doctorants : Anthony Bonfrate et Nicolas Tkatchenko pour tous les délires que l'on a eus ensemble. Et les anciens stagiaires : Guillaume Brault, Antoine Gobert, Alexandre Hébré, Océane Grand, Wendy Le Bris, Yassine Rizzi, Paul Servell, et Fabian Taesch. Ça a été un réel plaisir de vous avoir côtoyés tout au long de cette aventure.

Une pensée particulière aux personnes avec qui j'ai partagé mon bureau : Corrado Cardano pour le côté italien que tu as pu apporter, Guillaume Garnier pour la bonne ambiance que tu as pu amener, Madison Ribeiro qui m'a conduit vers la voie de la pâtisserie. C'est en partie grâce à toi que je fais des cookies maintenant ! Quentin Ussunet pour toutes les discussions que l'on a pu avoir au sein du bureau, Sylvain Vayre qui m'a aidé à résoudre les dingbats de Thomas au début, Fabrice Entine pour les blagues toujours bien placées. Un grand merci aussi à Hoang Ngoc Tran pour son soutien et ses conseils, surtout en période de rédaction.

Je n'oublierai pas non plus notre chère assistante, Nadège Le Bihan. Merci pour tous tes encouragements et d'avoir été présente quand j'avais besoin de quelque chose. Ton appui a été très précieux.

Enfin, je tiens à exprimer toute ma reconnaissance à mes parents, à ma famille, et à mes amis, qui m'ont beaucoup apporté et qui ont su me soutenir durant ces trois années.

Table des matières

Introduction générale	1
Références	5
Chapitre 1 - Etat de l'art de la simulation des dommages à l'ADN	7
1.1 Relation entre les caractéristiques physiques des rayonnements ionisants et leurs effets biologiques	9
1.1.1 Introduction	9
1.1.2 La microdosimétrie	12
1.1.3 La nanodosimétrie	15
1.2 L'ADN et les dommages radio-induits	16
1.2.1 Structure de l'ADN à différentes échelles	16
1.2.1.1 L'ADN	16
1.2.1.2 Le Nucléosome	19
1.2.1.3 Euchromatine et hétérochromatine	19
1.2.1.4 Compaction de plus haut niveau	22
1.2.2 Dommages à l'ADN induits par les rayonnements ionisants	24
1.2.2.1 Types de dommages des brins de l'ADN	25
1.2.2.2 Détection des cassures double brins de l'ADN	27
1.3 Les méthodes de Monte-Carlo appliquées à la radiobiologie	29
1.3.1 Les codes Monte-Carlo	29
1.3.1.1 Principe des codes de structure de trace	29
1.3.1.2 Les différents codes de structure de trace	31
1.3.1.3 Geant4/Geant4-DNA	32
1.3.2 Modèles géométriques de l'ADN pour la simulation	41
1.4 Objectifs du travail de thèse	55
Références	57
Chapitre 2 - Outils et méthodes	67
2.1 SymVox/DnaFabric	69
2.1.1 Présentation et objectifs du logiciel	69
2.1.2 Modélisation géométrique multi-échelles de l'ADN	70
2.1.3 Modélisation géométrique de noyaux cellulaires	71
2.1.4 Extension des modèles dans DnaFabric	73
2.2 Etude de la validité de la physique et de la chimie de Geant4-DNA	77
2.2.1 Physique : comparaison des modèles physiques implémentés dans Geant4-DNA avec les données expérimentales	78
2.2.2 Chimie : comparaison du modèle chimique implémenté dans Geant4-DNA avec les données expérimentales	85
2.3 Simulation des dommages à l'ADN avec Geant4-DNA	87

2.3.1 Module Physique : phys_geo	87
2.3.1.1 Prise en compte des géométries	87
2.3.1.2 Déroulement de la simulation de la partie physique	90
2.3.2 Module Chimique : chem_geo	91
2.3.2.1 Principe de chem_geo	91
2.3.2.2 Modifications du code source de Geant4 pour la chimie	92
2.3.2.3 Modifications et ajouts des réactions chimiques	92
2.3.2.4 Prise en compte du scavenging dans la simulation	94
2.3.3 Calculs des dommages radio-induits précoces à l'ADN	94
2.4 Configurations de la simulation des irradiations	97
2.4.1 Configurations spatiales des irradiations	97
2.4.2 Particularité des simulations photons	99
2.5 Conclusions du chapitre	100
Références	102
Chapitre 3 - Influence du rapport du volume de l'ADN nucléaire sur le volume du noyau cellulaire et du niveau de compaction de la chromatine sur les dommages radio-induits précoces à l'ADN	105
3.1 Echelle microscopique : effet du rapport du volume de l'ADN nucléaire sur le volume du noyau cellulaire sur l'induction des dommages dans des noyaux cellulaires avec différents volumes ..	107
3.1.1 Nombre de DSB par particule primaire par μm parcouru	109
3.1.2 Nombre de DSB par Gray par Gbp.....	111
3.1.3 Comparaison des dommages issus des irradiations protons et alphas	113
3.2 Calculs et comparaison des fragments d'ADN après irradiation	114
3.3 Influence à l'échelle nanométrique : effet de la compaction de la chromatine sur les dommages à l'ADN.....	116
3.3.1 Comparaison des proportions des cassures directes et indirectes et de la complexité des DSBs entre l'hétérochromatine et l'euchromatine	116
3.3.2 Influence de la durée de la simulation de l'étape chimique.....	124
3.4 Conclusions du chapitre	127
Références	129
Chapitre 4 - Mise en place de la simulation micro et nanodosimétrique pour des irradiations photon : comparaison à des données expérimentales	133
4.1 Population de cellules endothéliales irradiées par des rayons X de différentes énergies.....	135
4.1.1 Simulation de la configuration expérimentale de l'irradiation des HUVECs	137
4.1.2 Simulation en deux étapes.....	140
4.1.3 Approches microdosimétrique et nanodosimétrique	144
4.1.3.1 Calculs microdosimétriques dans la population cellulaire	144
4.1.3.2 Calculs nanodosimétriques dans le noyau de cellule endothéliale	147

4.2 Etude des dommages à l'ADN dans la levure <i>Saccharomyces cerevisiae</i> après irradiation avec une source de Césium-137	151
4.2.1 Contexte de l'étude	151
4.2.2 Modèle géométrique du noyau de <i>S. cerevisiae</i>	154
4.2.3 Simulation de la configuration expérimentale de l'irradiation	154
4.2.4 Nombre de DSBs simulés par Gray et par cellule et complexité des DSBs	157
4.3 Conclusions du chapitre	158
Références	160
Chapitre 5 - Extension de la simulation vers les effets biologiques tardifs .	165
5.1 Les voies de réparation des dommages à l'ADN	167
5.1.1 Jonction d'extrémités non-homologues (NHEJ).....	167
5.1.2 Recombinaison homologue (HR).....	168
5.1.3 Choix entre NHEJ et HR	170
5.2 Les modèles d'extension vers les effets tardifs	171
5.2.1 Modèles historiques	172
5.2.2 Modèles paramétriques.....	176
5.2.2.1 Le « Two-lesion kinetic model » (TLK)	176
5.2.2.2 Le « Local effect model » (LEM).....	178
5.2.2.3 Le « Microdosimetric kinetic model » (MKM)	183
5.2.3 Modèles mécanistiques	185
5.2.3.1 PARTRAC	186
5.2.3.2 Modèle de Taleei et al.	188
5.2.3.3 BIANCA (Biophysical analysis of cell death and chromosome aberrations)	189
5.2.3.4 Modèle de McMahon et al.....	190
5.3 Choix des modèles paramétriques : application du LEM IV et du modèle TLK.....	191
5.3.1 Application du LEM IV pour la cinétique de réparation des DSBs.....	192
5.3.2 Application du modèle TLK pour le calcul des courbes de survie cellulaire	197
5.4 Conclusions du chapitre	200
Références	202
Conclusions et perspectives.....	207
Références	212
Contributions scientifiques.....	215

Liste des figures

CHAPITRE 1

Figure 1.1 : Traces de protons et de particules alphas simulées dans Geant4-DNA dans l'eau liquide pour une même énergie ou un même TEL	10
Figure 1.2 : Efficacité biologique relative (EBR) de la survie cellulaire pour des cellules de CHO entre deux types de rayonnements	11
Figure 1.3 : Variation du rapport ϵ/m , en fonction de la masse m du volume cible	12
Figure 1.4 : Les bases azotées complémentaires des deux brins de l'ADN sont reliées entre elles par des liaisons hydrogène	17
Figure 1.5 : Les trois conformations principales de l'ADN, de gauche à droite : ADN-A, ADN-B et ADN-Z	18
Figure 1.6 : Caractéristiques de la double hélice d'ADN dans sa conformation ADN-B	18
Figure 1.7 : Deux nucléosomes reliés entre eux par un « linker » d'ADN	19
Figure 1.8 : Image obtenue par microscopie électronique de la fibre d'euchromatine reconnaissable par sa forme en « collier de perles »	20
Figure 1.9 : Image obtenue par microscopie électronique de la fibre d'hétérochromatine de 30 nm de diamètre	21
Figure 1.10 : Les zones d'euchromatine (en clair) et d'hétérochromatine (en foncé) en microscopie électronique	22
Figure 1.11 : Les différents niveaux de compaction de l'ADN	23
Figure 1.12 : Chronologie des événements conduisant aux effets biologiques : étapes physique, physico-chimique, chimique, biochimique et biologique	24
Figure 1.13 : Schéma illustrant la radiolyse de l'eau	25
Figure 1.14 : Schéma illustrant une classification possible des dommages selon leur complexité	26
Figure 1.15 : Image par microscopie confocale montrant le nombre de foyers γ -H2AX	28
Figure 1.16 : Modèle d'ADN utilisée par Charlton et al	42
Figure 1.17 : Modèle d'un segment d'ADN de 14,3 nm développé par Pomplun	42
Figure 1.18 : Modèle géométrique d'ADN utilisé par Pinak et Ito	43
Figure 1.19 : Modèle de nucléosome développé par Michalik et Begusova	44
Figure 1.20 : Modèle de nucléosome par Pomplun et Terrissol	44
Figure 1.21 : La fibre de chromatine de 30 nm de diamètre implémentée par Holley et Chatterjee	45
Figure 1.22 : Fibre de chromatine en configuration « zigzag » développée par Friedland et al	46
Figure 1.23 : De gauche à droite : fibre de chromatine en configuration « solénoïde », « crossed-linker » et « stochastique » dans PARTRAC	46
Figure 1.24 : Modélisation de la boucle de chromatine par Friedland et al	47
Figure 1.25 : Élément de base de la fibre de chromatine composé de 30 nucléosomes et arrangement en « rosette » de ces éléments de bases formant une structure de 0,5 Mbp	48

Figure 1.26 : Chaque chromosome est représenté par une chaîne linéaire de domaines sphériques contenant chacun 1 Mbp et liés entre eux par des potentiels entropiques	48
Figure 1.27 : Disposition des chromosomes sous forme condensée au sein du modèle du noyau de lymphocyte.....	49
Figure 1.28 : Modèle du noyau de lymphocyte et son contenu génomique après relaxation.....	49
Figure 1.29 : Les cinq types de cubes contenant la fibre de chromatine dans PARTRAC	50
Figure 1.30 : Modèle du noyau de lymphocyte humain dans PARTRAC	50
Figure 1.31 : Modèle du noyau de fibroblaste humain dans PARTRAC.....	51
Figure 1.32 : Modèle d'un noyau de lymphocyte et son contenu génomique développé par Nikjoo et Girard	51
Figure 1.33 : Les modèles de nucléosome et de la fibre de chromatine de 30 nm de diamètre de Bernal et al	52
Figure 1.34 : Les cinq niveaux de l'organisation structurelle de l'ADN-B implémentés dans Geant4-DNA par Dos Santos et al	53
Figure 1.35 : Deux cubes contenant de l'hétérochromatine sont séparés par un cube contenant de l'euchromatine dans PARTRAC	54
Figure 1.36 : Modèle d'un di-nucléosome généré à partir du fichier PDB 1ZBB.....	54
Figure 1.37 : Modèle d'un noyau cellulaire comprenant une organisation fractale de la distribution de la chromatine	55

CHAPITRE 2

Figure 2.1 : Caractéristiques de la conformation B-DNA	70
Figure 2.2 : Représentation multi-échelles de l'ADN de la paire de nucléotides jusqu'à la fibre de chromatine dans DnaFabric.....	71
Figure 2.3 : Génération d'un noyau de cellule d'ovaire de hamster chinois (CHO) dans DnaFabric ..	72
Figure 2.4 : Représentation des modèles de noyaux du fibroblaste, lymphocyte et de la cellule endothéliale dans DnaFabric	73
Figure 2.5 : Fibre de chromatine composée par une association de cinq voxels d'hétérochromatine et six voxels d'euchromatine	74
Figure 2.6 : Modification de l'interface utilisateur graphique avec l'ajout d'une option permettant de fixer la proportion d'euchromatine au sein du noyau cellulaire	74
Figure 2.7 : Distribution de (a) l'euchromatine et de (b) l'hétérochromatine dans une HUVEC	76
Figure 2.8 : Comparaison entre les pouvoirs d'arrêt massique des électrons dans l'eau liquide calculés avec les modèles d'excitation et d'ionisation de Geant4-DNA et plusieurs recommandations pour l'eau liquide	80
Figure 2.9 : Comparaison entre les sections efficaces du pouvoir d'arrêt des protons et des atomes d'hydrogène dans l'eau liquide calculées avec les modèles d'excitation et d'ionisation de Geant4-DNA, et plusieurs recommandations.....	81

Figure 2.10 : Sections efficaces de pouvoir d'arrêt pour les atomes d'hélium et leurs différents états de charge dans l'eau liquide en fonction de l'énergie incidente	82
Figure 2.11 : Rendements des e_{aq}^- à 1 μ s en fonction de différents TEL de protons	86
Figure 2.12 : Rendements des OH^\bullet à 1 μ s en fonction de différents TEL de protons.....	86
Figure 2.13 : Architecture simplifiée de la chaîne de calcul utilisant Geant4-DNA (version 10.1.p02)	88
Figure 2.14 : Aperçu du fichier descriptif .fab2g4dna du noyau de fibroblaste incluant les positions (x, y, z) des différents types de voxels contenus.....	89
Figure 2.15 : Aperçu du fichier descriptif .fab2g4dna du voxel « droit », incluant les différents types de molécules, leur matériau, le brin auquel ils appartiennent (strand), leur identifiant (copy number) et leur position (x, y, z).....	89
Figure 2.16 : Aperçu du fichier d'entrée pour l'étape physico-chimique dans la chaîne de calcul contenant les positions (x, y, z) des molécules d'eau ionisées ou excitées ainsi que des électrons solvatés.....	91
Figure 2.17 : Définition des dommages à l'ADN lors de la simulation	95
Figure 2.18 : Définitions des DSB avec ou sans l'utilisation de DBScan	96
Figure 2.19 : Module d'analyse pour le calcul des fragments d'ADN	97
Figure 2.20 : Configuration de l'irradiation parallèle des noyaux de fibroblaste, de lymphocyte et d'endothéliale dans la simulation	99
Figure 2.21 : Configuration de l'irradiation isotropique des noyaux de fibroblaste, de lymphocyte et d'endothéliale dans la simulation	99

CHAPITRE 3

Figure 3.1 : Nombre calculé moyen de DSB/pp/ μ m en fonction du TEL pour des protons et des alphas dans les noyaux de fibroblaste, lymphocyte et d'endothéliale lors d'une irradiation parallèle.....	110
Figure 3.2 : Nombre calculé moyen de DSB/pp/ μ m en fonction du TEL pour des protons et des alphas dans les noyaux de fibroblaste, lymphocyte et d'endothéliale lors d'une irradiation isotropique..	110
Figure 3.3 : Nombre calculé moyen de DSB/Gy/Gbp en fonction du TEL pour des protons et des alphas dans les noyaux de fibroblaste, lymphocyte et d'endothéliale lors d'une irradiation parallèle.....	112
Figure 3.4 : Nombre calculé moyen de DSB/Gy/Gbp en fonction du TEL pour des protons et des alphas dans les noyaux de fibroblaste, lymphocyte et d'endothéliale lors d'une irradiation isotropique..	112
Figure 3.5 : Nombre de fragments d'ADN par Gy et par Gbp en fonction du TEL calculé à partir de la chaîne de simulation et ceux obtenus dans PARTRAC pour différentes tailles : 60-100 bp (a) correspondant à la formation de fragments au sein d'un nucléosome, 0,3-3 kbp (b) correspondant à la fibre de chromatine, 10-100 kbp (c) pour une boucle de chromatine et 0,3-3 Mbp (d) pour un domaine chromosomique	115

Figure 3.6 : Proportions (en %) de SB direct et indirect par Gy et par Gbp dans le modèle du noyau de fibroblaste rempli exclusivement d'hétérochromatine ou d'euchromatine pour des protons de TEL 2,7, 4,6, 27,2 et 47,9 keV/μm	118
Figure 3.7 : Proportions (en %) de SB direct et indirect par Gy et par Gbp dans le modèle du noyau de fibroblaste rempli exclusivement d'hétérochromatine ou d'euchromatine pour des alphas de TEL 32,7, 84,7 et 212,5 keV/μm	119
Figure 3.8 : Proportions (en %) de DSB simple et complexe par Gy et par Gbp dans le modèle du noyau de fibroblaste rempli exclusivement d'hétérochromatine ou d'euchromatine pour des protons de TEL 2,7, 4,6, 27,2 et 47,9 keV/μm	120
Figure 3.9 : Proportions (en %) de DSB simple et complexe par Gy et par Gbp dans le modèle du noyau de fibroblaste rempli exclusivement d'hétérochromatine ou d'euchromatine pour des alphas de TEL 32,7, 84,7 et 212,5 keV/μm	121
Figure 3.10 : Nombre absolu de DSB simulés par Gy et par Gbp en fonction du TEL pour des protons et des alphas dans le modèle de noyau de cellule endothéliale rempli que d'hétérochromatine (en bleu), ou avec une distribution uniforme d'hétérochromatine et d'euchromatine avec des proportions de 48% et de 52%, respectivement (en rouge)	123
Figure 3.11 : Nombre moyen de DSB par kbp calculé en fonction de la durée de la simulation de l'étape chimique dans quatre voxels d'hétérochromatine ou quatre voxels d'euchromatine pour des protons de 0,5 MeV	126
Figure 3.12 : Nombre moyen de DSB par kbp calculé en fonction de la durée de la simulation de l'étape chimique dans quatre voxels d'hétérochromatine ou quatre voxels d'euchromatine pour des alphas de 5,27 MeV.....	126
Figure 3.13 : Configuration de la simulation de l'irradiation de quatre voxels d'hétérochromatine ou d'euchromatine	127

CHAPITRE 4

Figure 4.1 : Spectres énergétiques des RX de 40 kVp (en rouge) et 220 kVp (en bleu) correspondant aux irradiations du SARRP.....	137
Figure 4.2 : Configuration de la première partie de la simulation pour l'irradiation SARRP	138
Figure 4.3 : Spectre énergétique des RX de 4 MVp.....	139
Figure 4.4 : Configuration de la première partie de la simulation pour l'irradiation Alphée	140
Figure 4.5 : Les noyaux sont placés au milieu de la couche cellulaire de 5 μm d'épaisseur	141
Figure 4.6 : Fréquence des électrons secondaires par énergie en échelle logarithmique résultant des RX de 40 kVp (en rouge), de 220 kVp (en bleu) et de 4 MVp (en vert)	143
Figure 4.7 : Distributions f(z; D) dans la population cellulaire irradiée à une dose de 0,25 Gy pour le 40 kVp (en rouge), le 220 kVp (en bleu), et le 4 MVp (en vert)	145
Figure 4.8 : Coefficient de variation σ _{rel} (en %) pour le 40 kVp, le 220 kVp et le 4 MVp à 0,25 Gy, 0,5 Gy, 1 Gy et 2 Gy.....	146

Figure 4.9 : Modèle du noyau de <i>Saccharomyces cerevisiae</i> avec son contenu génomique (12 Mbp) représenté par les voxels	154
Figure 4.10 : Schéma descriptif de l'irradiateur GSR D1 et ses 6 niveaux d'irradiation utilisé pour les irradiations sur <i>S. cerevisiae</i> avec une source de Césium-137.....	155
Figure 4.11 : Schéma de la modélisation de l'irradiation de <i>S. cerevisiae</i> avec une source de ¹³⁷ Cs.	156
Figure 4.12 : Spectre des électrons secondaires au niveau de la couche de cellules	157

CHAPITRE 5

Figure 5.1 : Schéma représentant la réparation d'un DSB via le NHEJ	168
Figure 5.2 : La réparation par recombinaison homologue.....	169
Figure 5.3 : Les deux cinétiques de réparation (rapide et lente) des DSBs chez les cellules de mammifères en fonction de la phase du cycle cellulaire.....	170
Figure 5.4 : Comparaisons des courbes de survie cellulaire expérimentales et calculées avec le modèle TLK en fonction de la dose pour des cellules V79 irradiées par des protons de 0,76 MeV et 1,9 MeV	178
Figure 5.5 : Schéma représentant la configuration des boucles de chromatine rattachées à la micelle	179
Figure 5.6 : Représentation schématique d'un noyau cellulaire découpé en domaines incluant un iDSB ou des cDSBs après une irradiation ion ou photon.....	180
Figure 5.7 : Fraction de DSBs non rejoints en fonction du temps pour des fibroblastes humains irradiés par des ions He, N et Fe de différents TELs pour une dose de 80 Gy.....	183
Figure 5.8 : Schéma général de la réparation de l'ADN et de la formation des aberrations chromosomiques dans le code PARTRAC	187
Figure 5.9 : Evolution de la fraction de DSBs non rejoints en fonction du temps après irradiation (parallèle) de cellules de fibroblastes avec des particules alphas et pour une dose de 100 Gy	193
Figure 5.10 : Calculs de l'évolution de la fraction de DSBs non rejoints en fonction du temps pour des fibroblastes irradiés par des alphas de 85 keV/μm et pour différentes doses : 1 Gy, 2 Gy, 3 Gy, 10 Gy et 68 Gy	194
Figure 5.11 : Calculs de l'évolution de la fraction de DSBs non rejoints en fonction du temps avec F_{unrej} (en bleu) ou sans F_{unrej} (en rouge) pour des fibroblastes irradiés par des alphas de 7 keV/μm et pour une dose de 80 Gy	195
Figure 5.12 : Calculs de l'évolution de la fraction de DSBs non rejoints en fonction du temps avec F_{unrej} (en bleu) ou sans F_{unrej} (en rouge) pour des fibroblastes irradiés par des alphas de 70 keV/μm et pour une dose de 80 Gy	196
Figure 5.13 : Calculs de l'évolution de la fraction de DSBs non rejoints en fonction du temps avec F_{unrej} (en bleu) ou sans F_{unrej} (en rouge) pour des fibroblastes irradiés par des alphas de 120 keV/μm et pour une dose de 80 Gy	196

Figure 5.14 : Courbes de survie cellulaire en fonction de la dose calculées pour des protons de différents TELs (1,7 keV/μm, 7,5 keV/μm, et 27,2 keV/μm)	199
Figure 5.15 : Courbes de survie cellulaire en fonction de la dose calculées pour des alphas de différents TELs (7 keV/μm, 16,2 keV/μm et 132 keV/μm)	199

Liste des tableaux

CHAPITRE 1

Tableau 1.1 : Liste succincte de différents codes Monte-Carlo de structure de trace.....	34
Tableau 1.2 : Les différents canaux de dissociation des molécules d'eau dans Geant4-DNA	38
Tableau 1.3 : Limites des pas en temps dans Geant4-DNA.....	41
Tableau 1.4 : Coefficients de diffusion pour les espèces chimiques dans Geant4-DNA	41

CHAPITRE 2

Tableau 2.1 : Caractéristiques des modèles géométriques représentant les noyaux d'un fibroblaste, d'un lymphocyte et d'une cellule endothéliale	73
Tableau 2.2 : Nombre de paires de bases et nombre de nucléosomes pour chaque type de voxel d'hétérochromatine (HC) et d'euchromatine (EC) et pour chaque longueur de voxel (50 nm et 40 nm)	77
Tableau 2.3 : Nombre de chaque type de voxels contenu dans chaque modèle de noyau cellulaire. 77	
Tableau 2.4 : Liste des processus, classes de modèles, leur domaine de validité en énergie et leur énergie de coupure dans la <i>physics list</i> par défaut « <i>G4EmDNAPhysics</i> » de Geant4-DNA (Geant4 version 10.1.p02) pour les différents types de particule considérés	84
Tableau 2.5 : Réactions et taux de réaction utilisés dans la partie chimique de la chaîne de calcul	93

CHAPITRE 3

Tableau 3.1 : Valeurs des TEL moyens calculés avec Geant4-DNA (10.1.p02) pour chaque type de particule, chaque noyau et pour l'irradiation en configurations parallèle et isotropique.....	109
Tableau 3.2 : Paramètres calculés pour chaque type de noyau cellulaire.....	111
Tableau 3.3 : Différences relatives entre l'hétérochromatine et l'euchromatine pour les proportions de SB direct/indirect et de DSB simple/complexe pour les différentes qualités de rayonnement. .	122
Tableau 3.4 : Parcours moyen des radicaux OH* en fonction de la durée de la simulation de l'étape chimique pour des temps de 2,5, 10, 15 et 100 ns dans des voxels de 40 ou 50 nm de côté sans ADN ou comprenant une fibre d'hétérochromatine ou bien d'euchromatine	125

CHAPITRE 4

Tableau 4.1 : Proportions d'effet photoélectrique (EP), d'effet Compton (EC) et de création de paires (PAIRE), ainsi que l'énergie moyenne des électrons secondaires (en keV) pour chaque énergie de RX	142
---	-----

Tableau 4.2 : Nombre moyen de DSB/Gy/Gbp simulé et proportions de DSB simple ou complexe par noyau de cellule endothéliale en G0/G1 et pour les RX de 40 kVp, 220 kVp et 4 MVp	148
Tableau 4.3 : Résultats obtenus par simulation dans ce travail comparés aux données expérimentales obtenues à l'IRSN	150

CHAPITRE 5

Tableau 5.1 : Valeurs de F_{unrej} pour des ions He, Fe et N de différents TELs utilisés dans le LEM IV.	182
Tableau 5.2 : Valeurs des paramètres λ_1 , λ_2 , β_1 , β_2 , et η pour les cellules de type fibroblaste	198

Liste des abréviations

^{137}Cs : Césium-137

^{60}Co : Cobalt-60

ADN : Acide désoxyribonucléique

A-NHEJ : Alternative Non-homologous end-joining

BER : Excision de bases

BIANCA : Biophysical analysis of cell death and chromosome aberrations

BIR : Break-induced replication

bp : Base pair

cDSB : Clustered DSB

CEA : Commissariat à l'énergie atomique et aux énergies alternatives

CHO : Chinese hamster ovary cell

CIPR : Commission internationale de protection radiologique

CL : Cluster lesion

C-NHEJ : Classical Non-homologous end-joining

CPET : Compteur proportionnel équivalent tissu

dHJ : double jonctions de Holliday

DSB : Double-strand break

DSBR : Double-strand break repair

EBR : Efficacité biologique relative

EC : Euchromatine

Gbp : Giga base pairs

Geant4 : Geometry and tracking 4

Gy : Gray

HC : Hétérochromatine

HR : Homologous recombination

HUVECs : Human umbilical vein endothelial cells

ICRU : International commission on radiation units and measurements

iDSB : Isolated DSB

IRSN : Institut de radioprotection et de sûreté nucléaire

kVp : KiloVolt peak

LDRI : Laboratoire de dosimétrie des rayonnements ionisants

LEM : Local effect model

LPL : Lethal-potentially lethal

LQ : Linéaire-quadratique

LRAcc : Laboratoire de radiobiologie des expositions accidentelles

LTR : Laboratoire des télomères et réparation du chromosome

Mbp : Mega base pairs

MKM : Microdosimetric kinetic model

MMEJ : Microhomology-mediated end-joining

MMR : Réparation des mésappariements

MVp : MegaVolt peak

NER : Excision de nucléotides

NHEJ : Non-homologous end-joining

pp : Particule primaire

RMR : Repair-misrepair

ROSIRIS : Radiobiologie des systèmes intégrés pour l'optimisation des traitements utilisant des rayonnements ionisants et évaluation du risque associé

RPA : Replication protein A

RX : Rayons X

SARRP : Small animal radiation research platform

SB : Strand break

SDSA : Synthesis-dependent strand annealing

SFC : Space filling curve

SSB : Single-strand break

TEL : Transfert d'énergie linéique

TLK : Two-lesion kinetic

WT : Wild-type

Introduction générale

Dans le domaine médical, les rayonnements ionisants sont utilisés à des fins diagnostiques et thérapeutiques. Toutefois, les expositions médicales, tout comme les autres formes d'exposition aux rayonnements ionisants, peuvent amener à des effets délétères au niveau des cellules saines. Ainsi, et plus généralement, l'étude des mécanismes d'induction d'effets biologiques lors de l'exposition aux rayonnements ionisants et des risques associés demeure un domaine de recherche actif. En effet, ces effets biologiques dépendent de multiples paramètres que l'on peut distinguer en deux catégories. La première concerne les caractéristiques physiques du rayonnement telles que le type de particule et son énergie, qui vont déterminer la topologie du dépôt d'énergie initial à l'échelle moléculaire. La deuxième catégorie se réfère quant à elle, aux différences biologiques et biochimiques de la cible. Effectivement, lors de la réponse biologique, diverses molécules ainsi que différents mécanismes sont impliqués. Les propriétés biologiques de la cible telles que le type cellulaire et la phase du cycle cellulaire peuvent également influencer les effets.

Dans ce contexte, le programme de recherche ROSIRIS (Radiobiologie des Systèmes Intégrés pour l'optimisation des traitements utilisant des rayonnements ionisants et évaluation du RISque associé), a été initié en 2009 par l'IRSN. Il a pour but d'améliorer les connaissances sur les mécanismes à l'origine des effets secondaires des radiothérapies. Le programme ROSIRIS permet notamment d'acquérir de nouvelles connaissances sur les effets biologiques des ions (proton, alpha, carbone) et des rayons X (RX) afin d'améliorer les modèles d'évaluation des risques associés. ROSIRIS est donc un programme pluridisciplinaire dans lequel collaborent des physiciens, des chimistes et des biologistes, afin de tenter d'établir des liens entre les événements précoces radio-induits et les effets biologiques plus tardifs aux niveaux cellulaire et tissulaire. A terme, ce programme devrait permettre d'améliorer la prédiction d'apparition de complications des tissus sains, d'optimiser et de personnaliser les protocoles de radiothérapie, et d'ouvrir de nouvelles pistes de traitement (source : <https://www.irsn.fr/>).

ROSIRIS s'articule autour de trois axes de recherche :

- Le premier axe vise à étudier les corrélations entre la topologie des dépôts d'énergie à l'échelle nanométrique et celle des événements biologiques initiaux radio-induits.
- Le deuxième axe a pour objectif, la compréhension intégrée de la dynamique des événements moléculaires impliqués dans la réponse cellulaire aux rayonnements ionisants.
- Le troisième axe vise à valider expérimentalement *in vivo* les hypothèses physiopathologiques à l'origine du risque des complications des radiothérapies et les acteurs clés identifiés.

Ce travail de thèse s'inscrit dans le premier axe de ROSIRIS et plus particulièrement dans la recherche du lien entre les caractéristiques physiques du rayonnement et les dommages précoces. Pour cela, la méthodologie de recherche adoptée repose sur l'utilisation de simulations mécanistiques par méthode

de Monte-Carlo, des étapes dites physique, physico-chimique et chimique ayant lieu après irradiation et qui se suivent dans le temps afin de prédire les premiers effets radio-induits responsables d'effets délétères comme les dommages à l'ADN. Il est reconnu que ces dommages peuvent conduire à des aberrations chromosomiques, induire une instabilité génomique, conduire à la mort cellulaire ou bien au développement d'un cancer. En outre, les différents niveaux de compaction de la chromatine, à savoir l'hétérochromatine et l'euchromatine, semblent jouer un rôle quant au nombre de dommages initiaux radio-induits à l'ADN et doivent, de ce fait, être considérés lors de l'évaluation de risques [FALK et al., 2010].

Jusqu'à présent, dans le cadre de cet axe, plusieurs travaux ont été réalisés avec, entre autres, la thèse de Morgane Dos Santos [DOS SANTOS, 2013] qui a permis l'implémentation des premiers modèles géométriques de l'ADN au sein de la simulation avec notamment le calcul des dommages directs issus de l'étape physique. Egalement, la thèse de Sylvain Meylan [MEYLAN, 2016] qui a poursuivi le développement des géométries d'ADN avec une modélisation multi-échelles, de la molécule d'ADN aux territoires chromosomiques, et qui a développé des outils nécessaires pour permettre la simulation de l'ensemble des étapes physique, physico-chimique et chimique conjointement avec les modèles d'ADN [MEYLAN et al., 2017]. C'est dans la continuité de ces travaux que cette thèse prend sa place.

Actuellement, l'évaluation des risques associés à une exposition médicale aux rayonnements ionisants est basée sur l'utilisation de grandeurs telles que la dose absorbée ou l'efficacité biologique relative (EBR) du rayonnement considéré afin de caractériser l'effet biologique d'une dose de rayonnement (relation dose-effet). Cependant, nous verrons dans le **premier chapitre de cette thèse**, que ces grandeurs ne sont pas assez spécifiques pour évaluer la relation entre les caractéristiques physiques des rayonnements ionisants et leurs effets biologiques à l'échelle cellulaire et subcellulaire. En effet, ces grandeurs ne prennent pas en compte la nature stochastique des dépôts d'énergie survenant à ces échelles. Pour répondre à ce besoin, de nouvelles grandeurs sont apparues dès les années 1960 avec le formalisme microdosimétrique [ROSSI, 1960]. Cependant, lorsque l'on s'intéresse plus particulièrement aux dépôts d'énergie ayant lieu dans des volumes moléculaires (nanométriques), la microdosimétrie montre des limites et une autre approche complémentaire est alors utilisée : la nanodosimétrie [SCHULTE et al., 2003]. Ainsi, la description de ces deux formalismes complémentaires sera effectuée dans ce chapitre. L'acide désoxyribonucléique (ADN) est une cible biologique critique lors de l'exposition à des rayonnements ionisants car elle joue un rôle majeur dans le bon fonctionnement cellulaire et dans la transmission de l'information génétique aux cellules filles [GOODHEAD, 1994 ; OLIVE, 1998 ; LOMAX et al., 2013]. Il paraît donc important d'en connaître les caractéristiques afin de pouvoir le modéliser de manière précise. Pour cela, une partie de ce chapitre sera également consacrée à la description de la structure de l'ADN et aux différents types de dommages radio-induits pouvant survenir sur cette molécule. Par ailleurs, une revue des différents modèles géométriques de l'ADN décrits dans la littérature sera présentée. Nous verrons également dans ce chapitre, que les codes de calcul employant les méthodes de Monte-Carlo sont indispensables pour simuler la nature stochastique des interactions des rayonnements avec la matière biologique. En

particulier, les codes dits de "structure de trace" permettent de simuler de manière détaillée, notamment chaque transfert d'énergie ayant lieu sur le parcours d'une particule. C'est ce qui définit l'étape physique. Certains de ces codes de structure de trace permettent également de simuler les étapes physico-chimique et chimique succédant à l'étape physique. Ces étapes correspondent au phénomène de radiolyse de l'eau, à la diffusion ainsi qu'aux réactions chimiques auxquelles participent les différents radicaux libres créés et contribuent fortement à l'induction de dommages à l'ADN. Une revue de différents codes de structure de trace sera effectuée avec une mention particulière pour le code Geant4 et son extension Geant4-DNA, qui ont été utilisés dans ce travail de thèse. Nous présenterons ainsi, la modélisation des étapes physique, physico-chimique et chimique au sein de Geant4/Geant4-DNA.

Le **deuxième chapitre** sera consacré à la présentation des outils et méthodes que j'ai utilisés ou développés tout au long de cette thèse. Lorsque l'on s'intéresse à la simulation des dommages radio-induits précoces à l'ADN, il s'avère important d'introduire un modèle géométrique détaillé de l'ADN au sein de la simulation. Dans un premier temps, nous présenterons donc le logiciel DnaFabric, développé au sein du laboratoire pendant la thèse précédente [MEYLAN, 2016]. DnaFabric permet la génération de noyaux cellulaires contenant une géométrie multi-échelles de l'ADN depuis une paire de nucléotides aux différents territoires chromosomiques. Néanmoins, au début de ce travail, uniquement la génération de la forme d'hétérochromatine était possible avec ce logiciel. J'ai donc effectué des extensions au sein de DnaFabric dans ce travail de thèse afin d'implémenter un nouveau modèle représentant l'euchromatine. Cela a permis de générer des géométries plus réalistes de noyaux cellulaires comprenant une répartition de l'hétérochromatine et de l'euchromatine provenant de mesures expérimentales effectuées à l'IRSN. Puis, nous nous attacherons à détailler la chaîne de calcul développée lors de la thèse de Sylvain Meylan [MEYLAN et al., 2017], basée sur Geant4/Geant4-DNA, qui permet la simulation des étapes physique, physico-chimique et chimique. Nous verrons alors que j'ai apporté des modifications à la partie chimique de cette chaîne afin de mieux simuler les réactions chimiques se produisant lors d'une irradiation. De plus, cette chaîne de calcul a la particularité de pouvoir intégrer dans la simulation les modèles géométriques d'ADN générés à partir de DnaFabric. Cela offre donc la possibilité de calculer les dommages radio-induits précoces à l'ADN avec des informations sur le type, la complexité et la localisation du dommage. Par ailleurs, j'ai également implémenté une méthode de calcul des dommages différente de celle utilisée par défaut dans la chaîne de calcul, afin de permettre une comparaison plus aisée avec d'autres codes de calcul en s'adaptant à leur définition des dommages. Cela a permis l'utilisation de ces résultats comme paramètre d'entrée dans les calculs des effets plus tardifs présentés au chapitre 5.

Le **troisième chapitre** présentera les résultats obtenus lors des simulations d'irradiations avec des ions (protons, alphas), de plusieurs modèles de noyaux de cellules humaines ayant des caractéristiques morphologiques différentes. Cela a permis d'étudier l'impact de la taille et de la forme du noyau cellulaire et donc, du rapport du volume de l'ADN nucléaire sur le volume du noyau cellulaire sur les effets radio-induits précoces à l'ADN. De plus, grâce à l'implémentation du nouveau modèle représentant l'euchromatine, il nous a également été possible d'évaluer l'influence de la

compaction de la chromatine à l'échelle nanométrique, sur l'induction de dommages ainsi que sur leur complexité.

Dans la continuité du programme ROSIRIS, les connaissances sur les effets biologiques des rayons X (RX) de faible ou haute énergie restent encore à développer. Dans ce contexte, le **quatrième chapitre** traitera des simulations concernant les RX. En premier lieu, ce chapitre présentera la comparaison des dommages précoces à l'ADN lors d'irradiations de cellules avec différentes énergies de RX. Les résultats issus des simulations ont été comparés aux données expérimentales obtenues par le Laboratoire de Radiobiologie des expositions Accidentelles (LRAcc) de l'IRSN [FRENEAU et al., 2018]. Pour cela, nous détaillerons la méthode développée pour simuler le dépôt d'énergie au niveau nanométrique sur une population cellulaire tout en tenant compte de la dose macroscopique définie lors de l'irradiation. En effet, la simulation du dépôt d'énergie à l'échelle d'une population cellulaire voire de l'ADN avec une précision nanométrique lors d'une irradiation photon nécessiterait des temps de calcul aberrants si elle prenait en compte l'ensemble des échelles étudiées. Une méthode divisant la simulation en deux parties a alors été appliquée afin d'optimiser ces temps : la première concerne la simulation macroscopique de l'expérience et génère un espace des phases des électrons secondaires qui est ensuite utilisé comme source de la deuxième simulation nanométrique des dommages cellulaires, tout en contrôlant la dose macroscopique souhaitée. Puis, afin d'illustrer les applications diverses de DnaFabric et de la chaîne de simulation, nous présenterons une étude effectuée en collaboration avec le Commissariat à l'énergie atomique et aux énergies alternatives (CEA) qui porte sur l'irradiation de cellules de levure avec du Césium-137.

Enfin, le **cinquième chapitre** concernera l'extension de la chaîne de calcul aux effets tardifs en prenant en compte des phénomènes succédant à l'apparition des dommages à l'ADN tels que les processus de réparation de l'ADN et des effets encore plus tardifs comme les phénomènes de mort cellulaire. Dans un premier temps, des notions sur les différentes voies de réparation possibles des dommages à l'ADN dans les cellules seront introduites. Puis, une revue des différents modèles publiés permettant de calculer ou simuler les effets tardifs sera établie. Parmi ces modèles, nous pouvons dénombrer plusieurs approches. Certains de ces modèles conservent une approche purement mécanistique [FRIEDLAND et al., 2013] alors que d'autres utilisent également des lois de probabilité [MCMAHON et al., 2016 ; BALLARINI et CARANTE, 2016] pour prédire par exemple, les aberrations chromosomiques. Comme nous le verrons dans ce chapitre, il existe également des modèles paramétriques permettant de faire un lien direct entre la répartition spatiale des dommages à l'ADN et les effets tardifs tels que la réparation des dommages à l'ADN [TOMMASINO et al., 2015] ou la survie cellulaire [STEWART, 2001]. Nous présenterons ici, le choix et l'application de certains de ces modèles existants à partir des résultats issus de nos simulations.

Références

- Ballarini, F., et Carante, M. P. (2016). Chromosome aberrations and cell death by ionizing radiation: Evolution of a biophysical model. *Radiation Physics and Chemistry*, 128, 18-25.
<https://doi.org/10.1016/j.radphyschem.2016.06.009>
- Dos Santos, M. (2013). *Modélisation de la topologie des dépôts d'énergie créés par un rayonnement ionisant à l'échelle nanométrique dans les noyaux cellulaires et relation avec les événements précoces radio-induits* (Thèse). Université Bordeaux.
- Falk, M., Lukasova, E., et Kozubek, S. (2010). Higher-order chromatin structure in DSB induction, repair and misrepair. *Mutation Research*, 704(1-3), 88-100.
<https://doi.org/10.1016/j.mrrev.2010.01.013>
- Freneau, A., Dos Santos, M., Voisin, P., et al. (2018). Relation between DNA double-strand breaks and energy spectra of secondary electrons produced by different X-ray energies. *International Journal of Radiation Biology*, 1-10. <https://doi.org/10.1080/09553002.2018.1518612>
- Friedland, W., et Kundrát, P. (2013). Track structure based modelling of chromosome aberrations after photon and alpha-particle irradiation. *Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis*, 756(1), 213-223.
<https://doi.org/10.1016/j.mrgentox.2013.06.013>
- Goodhead, D. T. (1994). Initial Events in the Cellular Effects of Ionizing Radiations: Clustered Damage in DNA. *International Journal of Radiation Biology*, 65(1), 7-17.
<https://doi.org/10.1080/09553009414550021>
- Lomax, M. E., Folkes, L. K., et O'Neill, P. (2013). Biological consequences of radiation-induced DNA damage: relevance to radiotherapy. *Clinical Oncology (Royal College of Radiologists (Great Britain))*, 25(10), 578-585. <https://doi.org/10.1016/j.clon.2013.06.007>
- McMahon, S. J., Schuemann, J., Paganetti, H., et al. (2016). Mechanistic Modelling of DNA Repair and Cellular Survival Following Radiation-Induced DNA Damage. *Scientific Reports*, 6, 33290.
<https://doi.org/10.1038/srep33290>
- Meylan, S. (2016). *Développement d'un outil de simulation multi-échelles adapté au calcul des dommages radio-induits précoces dans des cellules exposées à des irradiations d'ions légers (proton et alpha)* (Thèse). Université Bordeaux.
- Meylan, S., Incerti, S., Karamitros, M., et al. (2017). Simulation of early DNA damage after the irradiation of a fibroblast cell nucleus using Geant4-DNA. *Scientific Reports*, 7(1), 11923.
<https://doi.org/10.1038/s41598-017-11851-4>
- Olive, P. L. (1998). The Role of DNA Single- and Double-Strand Breaks in Cell Killing by Ionizing Radiation. *Radiation Research*, 150(5s), S42-S51. <https://doi.org/10.2307/3579807>
- Rossi, H. H. (1960). Spatial distribution of energy deposition by ionizing radiation. *Radiation Research, Suppl.*, Vol: 2. <https://doi.org/10.2307/3583601>
- Schulte, R., Bashkirov, V., Garty, G., et al. (2003). Ion-counting nanodosimetry: current status and future applications. *Australasian Physics & Engineering Sciences in Medicine*, 26(4), 149-155.
<https://doi.org/10.1007/BF03179174>

Stewart, R. D. (2001). Two-Lesion Kinetic Model of Double-Strand Break Rejoining and Cell Killing. *Radiation Research*, 156(4), 365-378.

[https://doi.org/10.1667/0033-7587\(2001\)156\[0365:TLKMOD\]2.0.CO;2](https://doi.org/10.1667/0033-7587(2001)156[0365:TLKMOD]2.0.CO;2)

Tommasino, F., Friedrich, T., Scholz, U., et al. (2015). Application of the local effect model to predict DNA double-strand break rejoining after photon and high-LET irradiation. *Radiation Protection Dosimetry*, 166(1-4), 66-70. <https://doi.org/10.1093/rpd/ncv164>

Chapitre 1 - Etat de l'art de la simulation des dommages à l'ADN

Sommaire

1.1 Relation entre les caractéristiques physiques des rayonnements ionisants et leurs effets biologiques	9
1.1.1 Introduction	9
1.1.2 La microdosimétrie	12
1.1.3 La nanodosimétrie	15
1.2 L'ADN et les dommages radio-induits	16
1.2.1 Structure de l'ADN à différentes échelles	16
1.2.1.1 L'ADN	16
1.2.1.2 Le Nucléosome	19
1.2.1.3 Euchromatine et hétérochromatine	19
1.2.1.4 Compaction de plus haut niveau	22
1.2.2 Dommages à l'ADN induits par les rayonnements ionisants	24
1.2.2.1 Types de dommages des brins de l'ADN	25
1.2.2.2 Détection des cassures double brins de l'ADN	27
1.3 Les méthodes de Monte-Carlo appliquées à la radiobiologie	29
1.3.1 Les codes Monte-Carlo	29
1.3.1.1 Principe des codes de structure de trace	29
1.3.1.2 Les différents codes de structure de trace	31
1.3.1.3 Geant4/Geant4-DNA	32
1.3.2 Modèles géométriques de l'ADN pour la simulation	41
1.4 Objectifs du travail de thèse	55
Références	57

1.1 Relation entre les caractéristiques physiques des rayonnements ionisants et leurs effets biologiques

1.1.1 Introduction

L'étude du lien entre les caractéristiques physiques des rayonnements ionisants et les effets biologiques induits par ces derniers repose en général principalement sur des grandeurs physiques telles que la dose macroscopique absorbée. Cependant, les rayonnements ionisants interagissent avec le milieu biologique de manière stochastique. Or, la dose macroscopique absorbée donne une estimation moyenne des transferts d'énergie à l'intérieur de volumes macroscopiques et ne donne pas d'information sur la répartition spatiale des dépôts d'énergie. Cela devient problématique lorsque l'on s'intéresse à des faibles volumes tels que la molécule d'ADN. On perd alors la propriété stochastique des dépôts d'énergie par les particules ionisantes au sein de la matière biologique. Par conséquent, la dose absorbée ne rend pas compte du type de rayonnement (photons, protons, alphas...) et de son énergie alors qu'ils constituent des paramètres importants lors de l'étude des effets biologiques des rayonnements [CARTER et al., 2018].

En effet, la topologie des dépôts d'énergie d'un type de rayonnement donné est déterminée par la structure nanométrique de la trace de la particule. Des rayonnements de différents types ou de différentes énergies montrent des variations au niveau de la structure de trace ce qui peut conduire à des dommages plus ou moins complexes. Il est reconnu notamment que la complexité des dommages peut fortement influencer la capacité de réparation de la cellule et donc, la survie cellulaire [PAGANETTI, 2018].

De plus, pour un même transfert d'énergie linéique (TEL), qui est également une grandeur moyenne mais définie à une plus faible échelle que la dose absorbée, deux types de particules distincts ne vont pas déposer l'énergie dans un volume micrométrique donné de la même manière, comme illustré dans la figure 1.1 pour un proton et un alpha de même TEL. Les électrons secondaires générés par le proton sont plus nombreux que ceux générés par la particule alpha, ils ont également une énergie cinétique plus faible ce qui conduit à des dépôts d'énergie plus rapprochés. La distribution spatiale des dépôts d'énergie à un même TEL est alors différente entre les protons et les alphas à l'échelle nanométrique, donc à l'échelle moléculaire.

Nous pouvons également observer dans la figure 1.1 que pour des alphas de 1 MeV et de 25 MeV, les traces des particules sont différentes. En effet, le TEL étant inversement proportionnel au carré de la vitesse de la particule incidente, plus l'énergie de la particule diminue, plus le TEL augmente. De ce fait, les dépôts d'énergie vont être plus importants pour les alphas de 1 MeV que pour les alphas de 25 MeV.

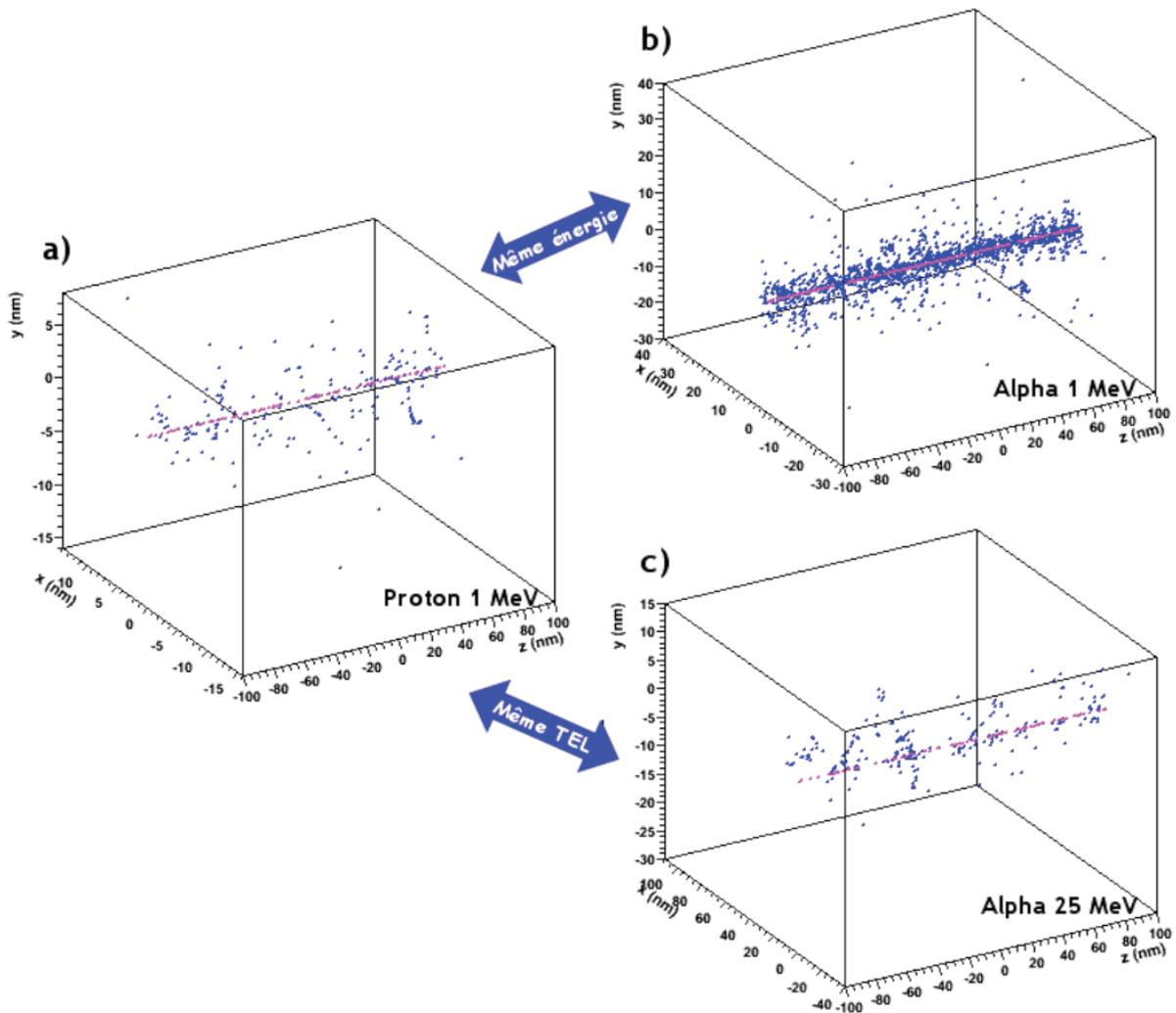


Figure 1.1 : Traces de protons et de particules alphas simulées dans Geant4-DNA dans l'eau liquide pour une même énergie ou un même TEL. Les points roses correspondent aux dépôts d'énergie de la particule primaire et les points bleus à ceux des particules secondaires [DOS SANTOS, 2013].

Afin de considérer la nature du rayonnement (type de particule, énergie, dose absorbée) en termes d'effets biologiques, l'Efficacité biologique relative est utilisée (EBR ou RBE en anglais). L'EBR est définie comme le ratio entre la dose d'un rayonnement de référence et la dose du rayonnement d'intérêt pour induire le même effet biologique. Ainsi, nous pouvons trouver par exemple, des valeurs d'EBR concernant l'induction de DSB et de manière plus classique, des valeurs d'EBR de survie cellulaire comme le montre la figure 1.2. Sur cette figure, nous pouvons constater par exemple que, pour obtenir une survie cellulaire de 10 %, la dose absorbée nécessaire est moins importante dans le cas des ions carbone que dans le cas des photons. De ce fait, l' EBR_{10} (EBR pour une survie cellulaire de 10%) est supérieure à 1 indiquant ainsi que les ions carbone sont plus efficaces que les photons. On remarque également que l'EBR varie avec l'énergie du rayonnement. En effet, l' EBR_{10} est égale à 4,2 pour les ions carbone de 11 MeV/u tandis qu'elle est de 1,6 pour les ions carbone de 266,4 MeV/u. De plus, si on considère cette fois-ci la survie à 1%, l' EBR_1 est égale à 3,4 et 1,5 pour les ions carbone de 11 MeV/u et 266,4 MeV/u respectivement. L' EBR_1 est donc différente de l' EBR_{10} ce qui montre bien

que l'EBR dépend du type et de l'énergie du rayonnement mais également de l'effet biologique considéré.

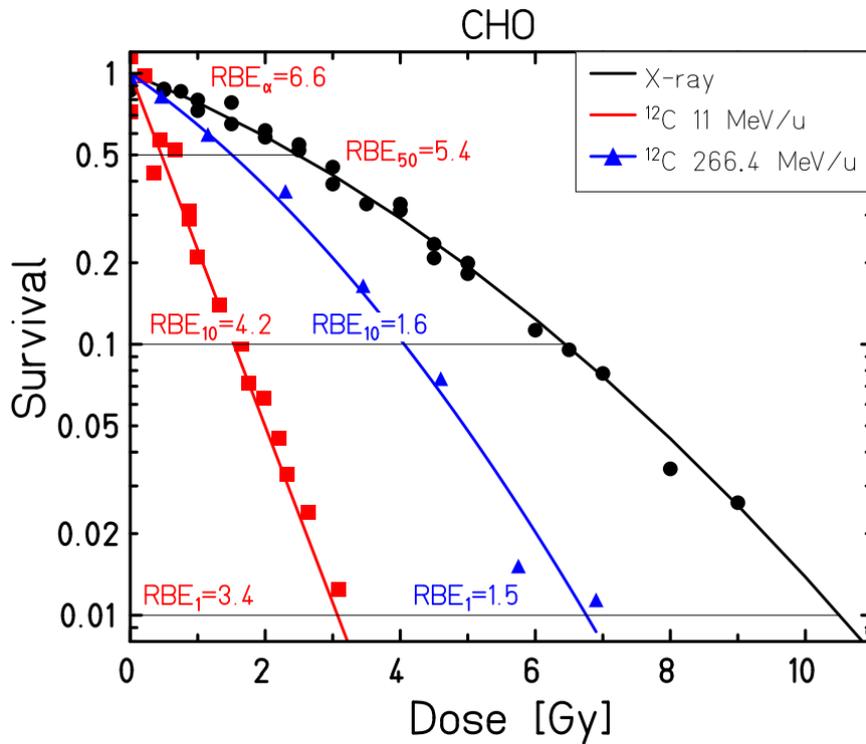


Figure 1.2 : Efficacité biologique relative (EBR) de la survie cellulaire pour des cellules de CHO entre deux types de rayonnements : photons (noir) et ions carbone de différentes énergies (11 MeV/u en rouge et 266,4 MeV/u en bleu) [KRAMER, 2009].

L'EBR montre donc certaines limites. De plus, elle permet seulement de mettre en évidence l'effet d'un rayonnement donné relativement à un autre rayonnement. Cette grandeur ne peut donc pas caractériser à elle seule l'effet biologique d'un rayonnement. De plus, elle est difficilement prédictible.

Cette impossibilité de prédiction de l'efficacité biologique d'un rayonnement définie à partir de doses macroscopiques absorbées est liée au fait que cette grandeur physique ne donne pas d'informations précises sur la répartition des dépôts d'énergie à l'échelle où cette différence est visible. Ainsi, lorsque l'on cherche à étudier les effets biologiques des rayonnements, d'autres grandeurs qui permettent d'étudier la nature et la distribution de l'énergie déposée dans la matière biologique à l'échelle cellulaire et subcellulaire sont nécessaires. Cela a d'ailleurs mené à l'introduction de grandeurs que l'on appelle grandeurs microdosimétriques.

1.1.2 La microdosimétrie

La microdosimétrie a été initiée et développée dès les années 1960 par H. H. Rossi [ROSSI 1960] dans le but de décrire la distribution spatiale des dépôts d'énergie issus d'interactions des rayonnements ionisants avec la matière biologique à l'échelle micrométrique.

La figure 1.3 illustre la variation du rapport entre la quantité d'énergie déposée ε et la masse m du volume cible en fonction de la masse m . Nous pouvons remarquer ici que, plus la masse du volume cible est faible ($< m_1$), plus les fluctuations des dépôts d'énergie sont importantes. Ces fluctuations sont dues au fait que l'énergie est déposée par les particules chargées en pas discrets. En revanche, pour des volumes plus larges correspondant à des masses comprises entre m_1 et m_2 , le nombre de dépôts d'énergie est suffisamment important pour que les fluctuations de leur somme n'apparaissent pas. On a donc une dose absorbée D qui converge vers une valeur donnée. Pour les volumes ayant une masse supérieure à m_2 , on observe une diminution du rapport $\frac{\varepsilon}{m}$ dû au fait que les rayonnements sont absorbés lors de leur traversée dans ces volumes.

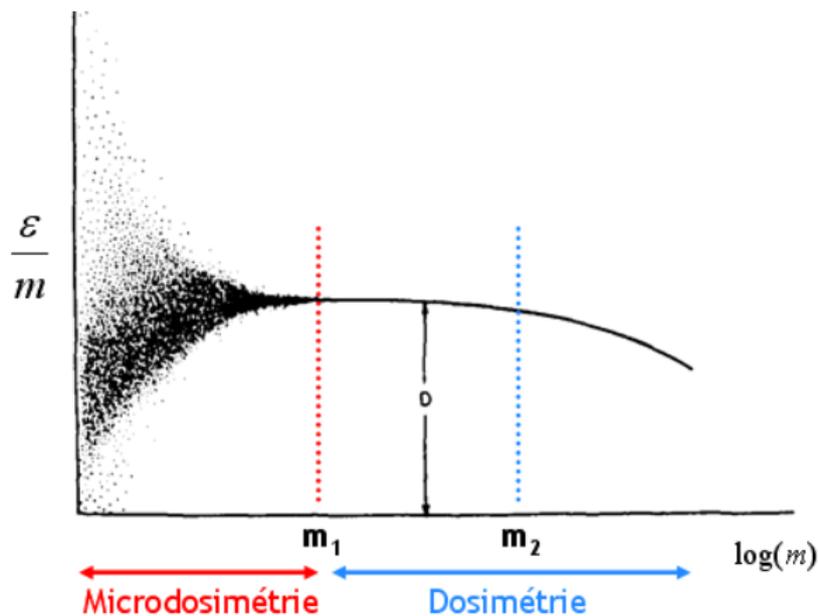


Figure 1.3 : Variation du rapport $\frac{\varepsilon}{m}$, en fonction de la masse m du volume cible.

C'est dans l'étude de l'énergie déposée dans les sites de faible masse ($< m_1$) que la microdosimétrie s'applique en fournissant des informations sur la distribution de l'énergie déposée par la mise en place d'un système de grandeurs physiques adaptées. Ces grandeurs physiques ont d'ailleurs été référencées dans le rapport 36 de l'ICRU (International Commission on Radiation Units and Measurements) en 1983 [ICRU, 1983]. Le système de grandeurs physiques repose sur l'énergie déposée lors d'un transfert d'énergie élémentaire et sur l'énergie communiquée à la matière dans un volume donné, comme la somme des dépôts d'énergie élémentaires dans ce volume.

Dans le rapport 85 de l'ICRU [ICRU, 2011], l'énergie communiquée ε (en joule ou en eV) à la matière dans un volume V donné est donnée par l'équation suivante :

$$\varepsilon = \sum_i \varepsilon_i \quad (1.1)$$

Avec $\sum_i \varepsilon_i$, la somme des transferts d'énergie ε_i lors d'une interaction inélastique individuelle en un point « i » de la trace.

$$\varepsilon_i = T_{in} - T_{out} + Q \quad (1.2)$$

Où T_{in} correspond à l'énergie de la particule ionisante incidente avant l'interaction, T_{out} la somme des énergies des particules ionisantes émises lors de l'interaction, et Q la variation de masse de toutes les particules et atomes impliqués dans l'interaction.

Les grandeurs dosimétriques qui seront définies par la suite dérivent de ces transferts d'énergie ε_i .

Energie spécifique

Une des grandeurs microdosimétriques est l'énergie spécifique z (en joule/kg ou Gray), qui relie la distribution des transferts d'énergie ε au volume dans lequel ils se produisent et donc, sa masse m :

$$z = \frac{\varepsilon}{m} \quad (1.3)$$

Pour rappel, la dose absorbée D (en J/kg ou en Gy) est exprimée comme :

$$D = \frac{d\bar{\varepsilon}}{dm} \quad (1.4)$$

C'est le rapport entre la moyenne de l'énergie déposée dans la matière et la masse du volume où a lieu le dépôt.

L'énergie spécifique z est donc l'équivalent microdosimétrique de la dose absorbée. Contrairement à D , z est une grandeur stochastique de densité de probabilité $f(z; D)$. D représente la moyenne de l'énergie spécifique :

$$D = \bar{z} = \int zf(z; D)dz \quad (1.5)$$

La probabilité d'obtenir l'énergie spécifique z dans le volume d'intérêt est représentée par $f(z; D)$, définie comme la densité de probabilité pour une dose macroscopique D fixée :

$$f(z; D) = \sum_{v=0}^{\infty} p(v) \cdot f_v(z) \quad (1.6)$$

avec

$$p(v) = e^{-n} \frac{n^v}{v!} \quad (1.7)$$

Le nombre d'évènements v conduisant à des dépôts d'énergie dans le volume cible suit une distribution de Poisson de valeur moyenne n , n étant le nombre de traces passant à travers le volume cible. f_v est la distribution de probabilité d'obtenir la valeur z dans le volume à partir de la contribution de v traces.

Energie linéale

L'énergie linéale (en keV/ μ m) est également une variable stochastique qui correspond au rapport entre l'énergie impartie au volume V par un évènement unique et la longueur moyenne de corde \bar{l} de ce volume.

$$y = \frac{\varepsilon}{\bar{l}} \quad (1.8)$$

Pour un volume cible convexe, $\bar{l} = \frac{4V}{S}$ avec S , la surface du volume V . Par exemple, pour une cible sphérique de diamètre d , $\bar{l} = \frac{2}{3}d$.

L'énergie linéale peut être reliée à l'énergie spécifique par la relation suivante :

$$y = \frac{\rho \cdot V}{\bar{l}} z \quad (1.9)$$

Avec ρ la masse volumique du volume V .

Les valeurs des grandeurs microdosimétriques d'un rayonnement peuvent être obtenues par la mesure ou par calcul Monte-Carlo. Lors de mesures expérimentales, des compteurs proportionnels "équivalent tissu" (CPET) sont les détecteurs les plus courants et permettent de simuler l'équivalent d'une cavité en tissu allant jusqu'à la centaine de nanomètres [BORTOT et al., 2019] en se basant sur l'utilisation d'un gaz composé de propane. Ces dispositifs expérimentaux présentent également l'avantage de réaliser des mesures en champ complexe (neutrons/ photon par exemple) sur une gamme étendue en énergie [TROMPIER et al., 2007].

1.1.3 La nanodosimétrie

Comme nous venons de le voir, la microdosimétrie offre des grandeurs et des méthodes d'évaluation permettant d'étudier l'aspect stochastique des dépôts d'énergie et ce, particulièrement à l'échelle micrométrique. Lorsque l'on s'intéresse plus précisément aux dommages au niveau de la molécule d'ADN, il devient nécessaire d'étudier les dépôts d'énergie à l'échelle nanométrique ce qui se fait notamment en utilisant une approche nanodosimétrique. A la différence de la microdosimétrie, la nanodosimétrie s'intéresse aux distributions des transferts d'énergie individuels le long des traces. Elle permet donc d'obtenir la fonction de distribution du nombre d'ionisations ou d'excitations au niveau nanométrique ainsi que de caractériser la structure des traces. La microdosimétrie et la nanodosimétrie sont deux formalismes différents mais qui donnent des informations complémentaires.

Notons également qu'il existe des dispositifs expérimentaux appelés nanodosimètres, permettant de mesurer la distribution des ionisations à l'échelle nanométrique. Il n'existe actuellement que trois nanodosimètres expérimentaux dans le monde : Jet Counter (NCBJ) [PSZONA et MARJANSKA, 2000], Ion Counter (PTB) [GARTY et al., 2002] et Startrack Counter (INFN) [CONTE et al., 2012]. Un des objectifs de la nanodosimétrie expérimentale est de mesurer les caractéristiques de la structure de traces des particules afin de pouvoir établir une corrélation directe entre les mesures nanodosimétriques et les conséquences biologiques [CONTE et al., 2017].

Des grandeurs nanodosimétriques sont alors utilisées pour la caractérisation de la structure de traces dans des volumes nanométriques.

La taille du cluster d'ionisations, notée v , correspond au nombre d'ionisations produit lors du passage d'une trace de particule dans un volume cible V , le plus souvent modélisé par un cylindre représentant un segment d'ADN.

La qualité du rayonnement Q associée au type de particule est caractérisée par la fonction de distribution de la probabilité $P_v(Q, V)$, qu'un nombre v d'ionisations a lieu dans ce volume cible V .

La grandeur $M_k(Q, V)$ représente le moment d'ordre k de la distribution $P_v(Q, V)$. Le premier moment, $M_1(Q, V)$ correspond à la taille moyenne du cluster d'ionisations v .

$$M_k(Q, V) = \sum_{v=0}^{\infty} v^k P_v(Q, V) \quad (1.10)$$

$F_k(Q, V)$ est la distribution de probabilité cumulative qu'un cluster de taille k ou plus se produise dans le volume V .

$$F_k(Q, V) = \sum_{v=k}^{\infty} P_v(Q, V) \quad (1.11)$$

$M_1(Q, V)$ et $F_2(Q, V)$ sont des valeurs particulièrement intéressantes dans l'étude des effets biologiques. En effet, $M_1(Q, V)$ représente la complexité du cluster tandis que $F_2(Q, V)$ peut être corrélé à la probabilité d'obtenir un nombre de DSBs [RABUS et NETTELBECK, 2011].

Actuellement, la simulation par méthode Monte-Carlo constitue un bon outil complémentaire aux dispositifs expérimentaux en permettant d'étudier les caractéristiques des dépôts d'énergie par les particules ionisantes dans des volumes nanométriques comme les molécules d'ADN. En effet, les codes de simulation de structure de traces ont la capacité de simuler ces particules ainsi que leurs interactions événement par événement. Cela permet d'obtenir un niveau de détail élevé quant à la distribution spatiale des dépôts d'énergie dans l'ADN conduisant ainsi, à une meilleure estimation des dommages radio-induits à l'ADN.

1.2 L'ADN et les dommages radio-induits

Tous les constituants cellulaires ainsi que les molécules peuvent être endommagés par un rayonnement ionisant. Cependant, lorsque l'ADN est touché, d'avantage de conséquences sur le fonctionnement cellulaire sont observées [JORGENSEN, 2009]. L'ADN ou acide désoxyribonucléique, est contenu en majeure partie dans le noyau et en faible quantité dans les mitochondries d'une cellule humaine. Il représente le support de l'information génétique nécessaire au maintien du métabolisme et de la réplication cellulaire. De ce fait, l'intégrité de l'ADN est cruciale pour la prévention de mutations cellulaires délétères ou la mort cellulaire, d'où l'importance de pouvoir prédire les dommages causés sur cette macromolécule.

1.2.1 Structure de l'ADN à différentes échelles

1.2.1.1 L'ADN

La structure de l'ADN a été découverte en 1953 par James Watson et Francis Crick [WATSON et CRICK, 1953] grâce à l'utilisation de la diffraction des rayons X. L'ADN possède une structure en forme de double hélice où deux brins d'ADN antiparallèles et complémentaires sont enroulés l'un autour de l'autre.

Chaque brin d'ADN est constitué d'une suite de nucléotides. Chaque nucléotide est constitué d'une base azotée liée à un sucre, le désoxyribose, qui est lui-même lié à un groupe phosphate. Le groupement phosphate-désoxyribose constitue ce que l'on appelle le squelette de l'ADN (« DNA backbone »). Au sein d'un même brin d'ADN, les nucléotides sont reliés par des liaisons covalentes entre le désoxyribose d'un nucléotide et le groupe phosphate du nucléotide suivant. Il existe quatre bases azotées de l'ADN, qui sont classées en deux types :

- Les purines, correspondant aux bases adénine (A) et guanine (G),
- Les pyrimidines, comprenant les bases thymine (T) et cytosine (C).

Les deux brins d'ADN sont donc associés par des bases complémentaires deux à deux (A avec T) et (G avec C), reliées entre elles par des liaisons hydrogène (2 liaisons hydrogène pour A-T et 3 liaisons hydrogène pour G-C) comme illustré sur la figure 1.4.

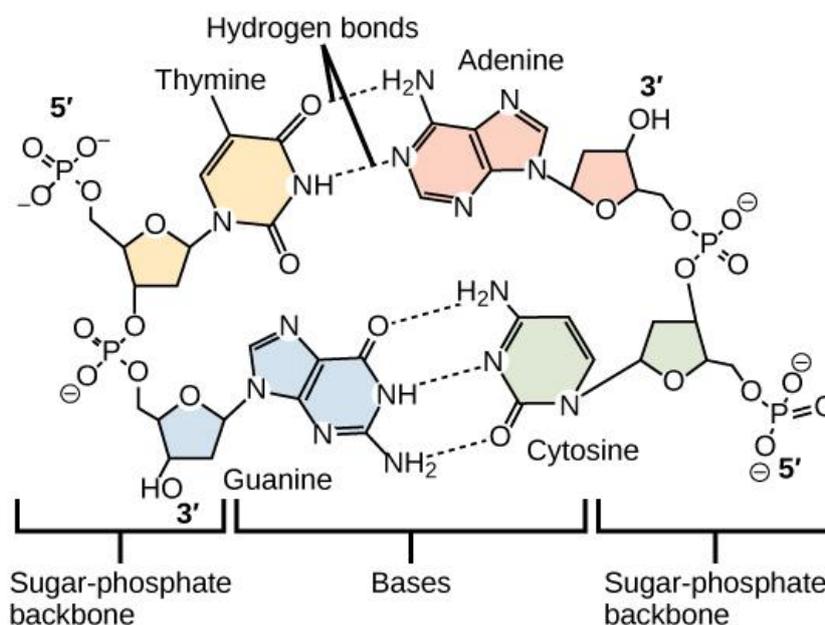


Figure 1.4 : Les bases azotées complémentaires des deux brins de l'ADN sont reliées entre elles par des liaisons hydrogène (source :

<https://cnx.org/resources/57ba0b3b7ebeddeca11b4177990737b9583648fc>).

Il existe trois conformations principales de la molécule d'ADN dénommées ADN-A, ADN-B et ADN-Z, qui dépendent des conditions du milieu biologique comme par exemple le degré d'hydratation, la séquence ou son taux de surenroulement [USSERY, 2002]. Ces trois formes d'ADN sont représentées sur la figure 1.5. Notons que seules les formes d'ADN-B et d'ADN-Z ont été observées *in vivo*.

L'ADN-A est observé *in vitro* lorsque la teneur en eau du milieu est faible et la force ionique élevée. La double hélice tourne à droite et son axe ne passe pas par les paires de bases.

L'ADN-B est la forme la plus courante d'ADN. Sa structure est illustrée sur la figure 1.6. C'est une double hélice droite dont le diamètre est de 2 nm et qui présente deux sillons, un majeur de 2,2 nm et un mineur de 1,2 nm, dû au fait que les deux brins d'ADN ne sont pas positionnés de manière

symétrique. L'ADN-B comprend 10 paires de bases par tour de la double hélice, la hauteur d'un tour complet (pitch) étant de 3,4 nm. La distance axiale séparant les paires de bases est donc de 0,34 nm.

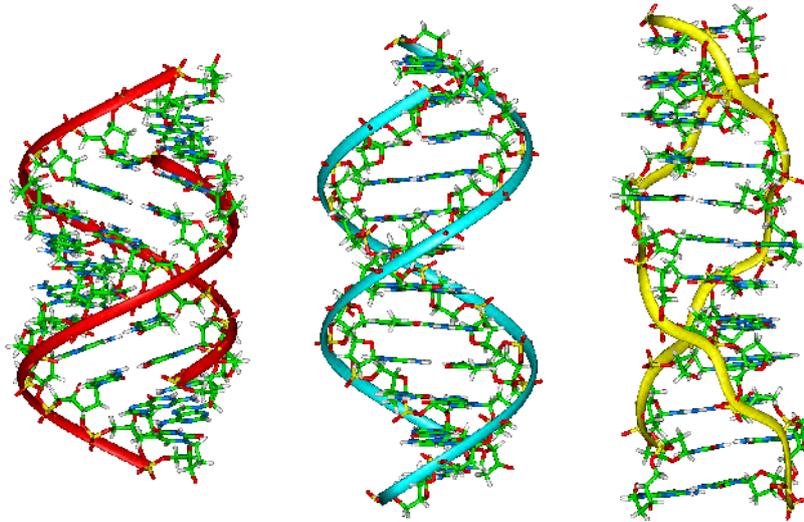


Figure 1.5 : Les trois conformations principales de l'ADN, de gauche à droite : ADN-A, ADN-B et ADN-Z (source : Wikipédia).

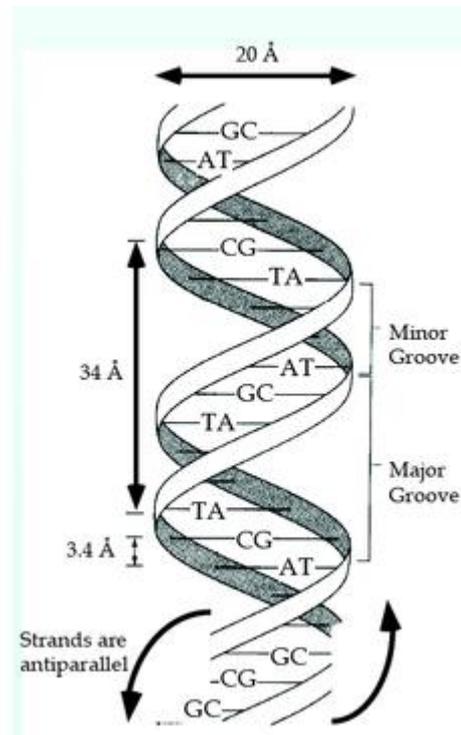


Figure 1.6 : Caractéristiques de la double hélice d'ADN dans sa conformation ADN-B (source : <https://users.cs.duke.edu/~reif/paper/DNA.ComputingChapter/images/B-DNA.png>).

L'ADN-B peut se transformer en ADN-Z lorsque la salinité du milieu augmente et lorsqu'il existe une répétition de séquences purines-pyrimidines. L'ADN-Z est une hélice gauche conduisant à une plus grande distance axiale séparant les paires de bases qui est de 0,77 nm et présente une forme de zigzag.

Les 6 Gbp de l'ADN contenues dans une cellule humaine représentent environ 2 mètres d'ADN [WING et al., 1980] et doivent être contenus au sein du noyau cellulaire qui est de relativement faible volume (centaines de μm^3). Pour cela, l'ADN doit être compacté à différents degrés.

1.2.1.2 Le Nucléosome

Le premier niveau de compaction de l'ADN est le nucléosome, qui correspond à l'enroulement de la double hélice d'ADN autour d'un octamère de protéines histones constitué de paires d'histones H2A, H2B, H3 et H4. Le segment d'ADN s'enroule autour de la particule cœur sur 1,7 tours ce qui correspond à environ 146 paires de bases. A noter que deux extrémités d'ADN se trouvent de part et d'autre du nucléosome permettant de lier les nucléosomes entre eux : ce sont les « DNA linker ». Au total, chaque nucléosome et son linker représentent environ 200 pb. Le nucléosome est l'unité de base de la fibre de chromatine et présente un diamètre compris entre 10 et 11 nm. Deux nucléosomes liés par un linker sont représentés sur la figure 1.7.

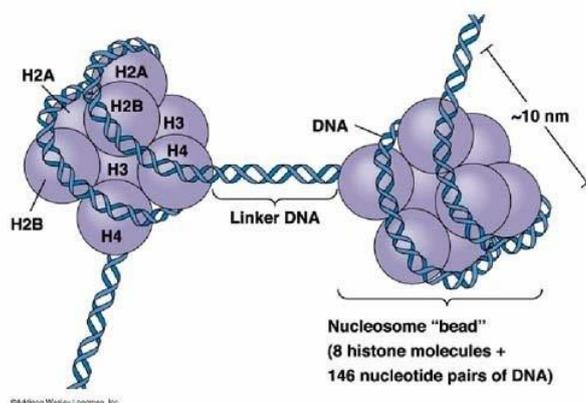


Figure 1.7 : Deux nucléosomes reliés entre eux par un « linker » d'ADN (source : Addison Wesley Longman Publishing (1999) Pearson Education).

1.2.1.3 Euchromatine et hétérochromatine

Les nucléosomes sont ensuite disposés de manière à former une chaîne continue d'ADN appelée fibre de chromatine. La fibre de chromatine se présente comme un enchevêtrement de filaments dont le diamètre varie au cours du cycle cellulaire mais également en fonction des différents domaines chromosomiques. Deux structures coexistent.

Une première structure est observable sous la forme de « collier de perles » appelée **euchromatine**, le « collier » étant la double hélice d'ADN et les « perles », les octamères d'histones. Une image de la fibre d'euchromatine obtenue par microscopie électronique est montrée sur la figure 1.8. L'euchromatine est la forme décondensée de la chromatine et son diamètre est égal à celui du nucléosome, c'est-à-dire, compris entre 10 et 11 nm. L'euchromatine est riche en concentration de gènes et correspond à des zones actives au niveau de la transcription. La décondensation de l'euchromatine est induite par les histones hyper-acétylées la composant.

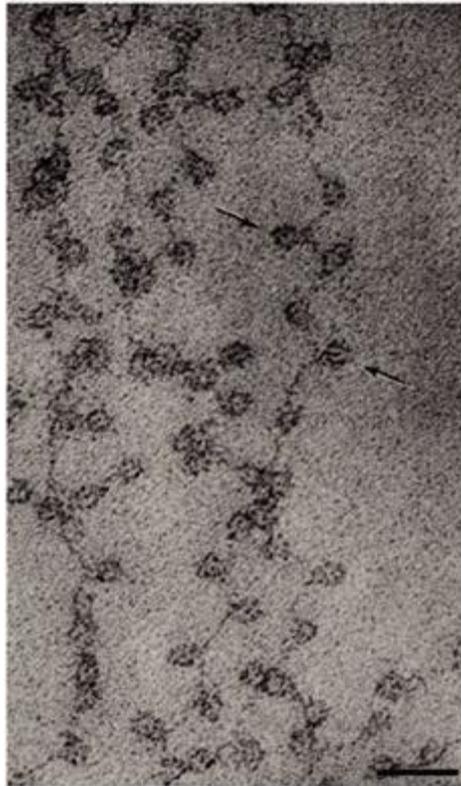


Figure 1.8 : Image obtenue par microscopie électronique de la fibre d'euchromatine reconnaissable par sa forme en « collier de perles » [OLINS et OLINS, 2003].

La deuxième structure est l'**hétérochromatine** représentant la chromatine sous une forme condensée d'environ 30 nm de diamètre sous l'action de l'histone H1 [TROJER et REINBERG, 2007 ; GROSS, 2015]. Elle est inactive transcriptionnellement et permet, de ce fait, la régulation de l'expression des gènes [GREWAL et JIA, 2007]. Il existe deux modèles décrivant cette forme de compaction de la chromatine : le modèle solénoïde et le modèle zig-zag [ROBINSON et RHODES, 2006]. Les histones de l'hétérochromatine sont hypo-acétylées ce qui leur confère cet aspect condensé que nous pouvons observer à la figure 1.9.



Figure 1.9 : Image obtenue par microscopie électronique de la fibre d'hétérochromatine de 30 nm de diamètre [OLINS et OLINS, 2003].

L'hétérochromatine et l'euchromatine sont deux structures à prendre en considération lors de l'étude des effets biologiques des rayonnements ionisants. En effet, il est reconnu que le niveau de compaction de la chromatine a une influence sur la sensibilité quant à l'induction de dommages radio-induits mais aussi à la signalisation et à la réparation de ces dommages [FALK et al., 2010].

Durant l'interphase du cycle cellulaire, l'ADN est majoritairement sous forme d'euchromatine tandis qu'en mitose, l'ADN se présente plutôt sous la forme d'hétérochromatine. Egalement, cette répartition d'euchromatine et d'hétérochromatine varie selon le type cellulaire, la localisation dans le noyau (chromosome), ainsi qu'au niveau du chromosome lui-même.

L'hétérochromatine et l'euchromatine peuvent être visualisées au sein du noyau cellulaire en microscopie électronique comme présenté à la figure 1.10. Les zones d'euchromatine sont moins denses aux électrons et apparaissent en zones claires dans le noyau tandis que les zones d'hétérochromatine sont denses et apparaissent en zones foncées en raison de leur forte absorption électronique.

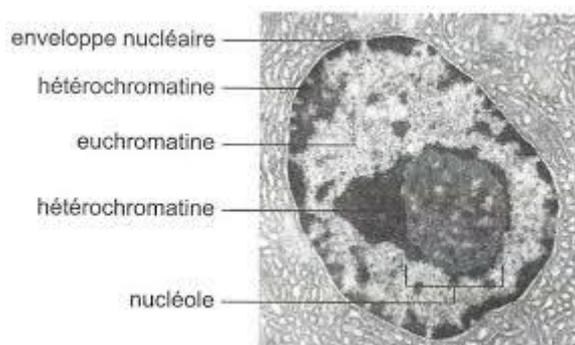


Figure 1.10 : Les zones d'euchromatine (en clair) et d'hétérochromatine (en foncé) en microscopie électronique (source : <https://www.svt-tanguy-jean.com/>).

1.2.1.4 Compaction de plus haut niveau

La fibre de chromatine forme ensuite ce que l'on appelle des boucles de chromatine de 300 nm de diamètre. Remarquons également que le degré de compaction de l'ADN varie selon les différentes phases du cycle cellulaire. Que ce soit en phase G₀ ou en interphase, l'ADN est globalement sous la forme de chromatine filamenteuse (euchromatine et hétérochromatine). C'est lors de la mitose (division cellulaire) que la chromatine atteint son niveau de compaction maximale avec la formation de chromosomes à deux chromatides (~1400 nm de diamètre). Les différents niveaux de compaction de l'ADN sont résumés sur la figure 1.11.

Hors de la phase de division cellulaire, le matériel génétique, dans un noyau de cellule humaine diploïde, est présent en deux exemplaires répartis en 46 chromosomes (23 paires) pour un total de 6 Gbp.

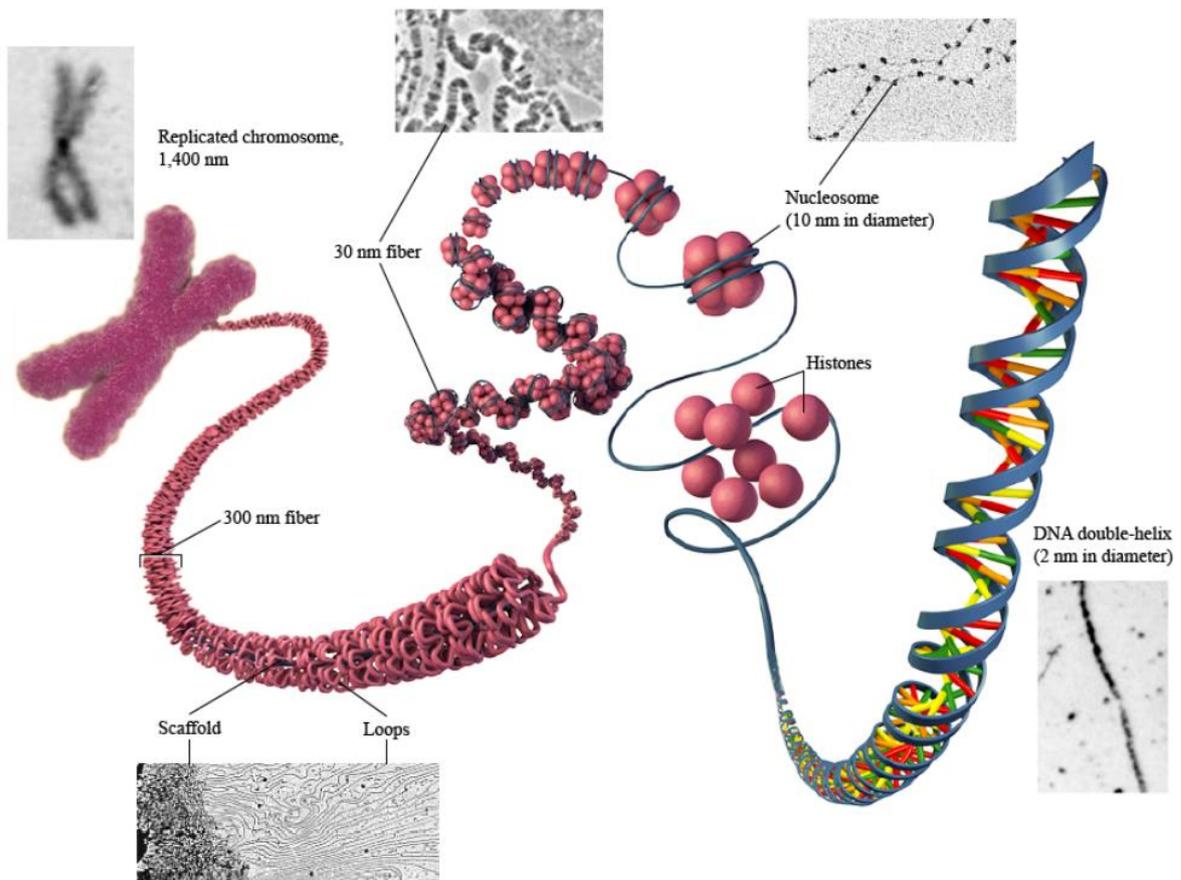


Figure 1.11 : Les différents niveaux de compaction de l'ADN (source : <https://alexandragordon.com/chromosomes-chromatin-and-dna>).

1.2.2 Dommages à l'ADN induits par les rayonnements ionisants

À partir du dépôt d'énergie initial, plusieurs événements se suivent sur une échelle de temps et conduisent aux effets biologiques sur l'ADN. Ces événements sont généralement regroupés en étapes temporellement distinctes [TURNER, 2007] comme représenté sur la figure 1.12.

Du dépôt d'énergie initiale aux effets biologiques « précoces » et plus tardifs :

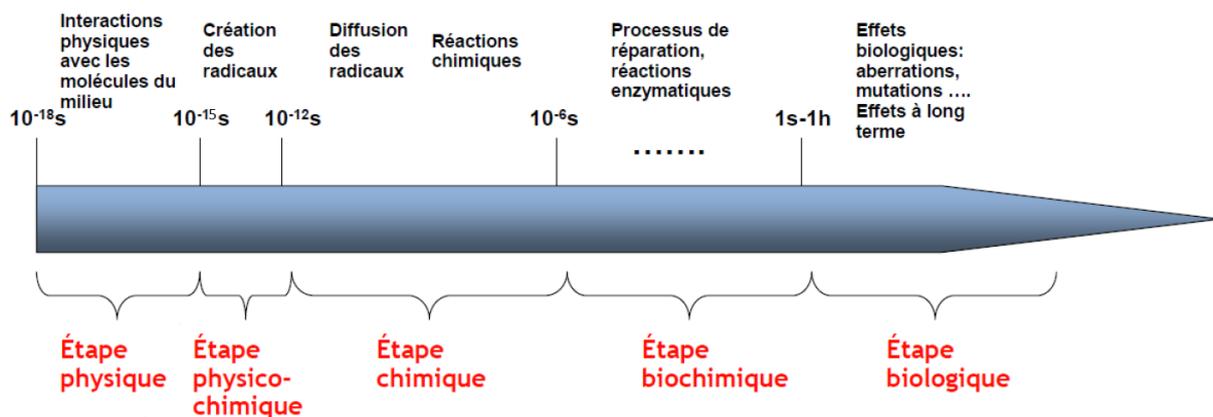


Figure 1.12 : Chronologie des événements conduisant aux effets biologiques : étapes physique, physico-chimique, chimique, biochimique et biologique.

Le dépôt d'énergie, à proprement parler, est connu sous le nom d'étape physique (entre 10^{-18} s et 10^{-15} s) [TURNER, 2007] et comprend les interactions physiques (élastiques et inélastiques) avec les molécules du milieu. Lors de cette phase a lieu l'ionisation ou l'excitation des molécules d'eau causée par les dépôts d'énergie issus des particules ionisantes. Lorsque l'énergie cinétique d'un électron atteint 25 meV, c'est-à-dire lors de sa thermalisation, il peut alors être « capturé » par des molécules d'eau formant ainsi un électron solvaté, e^-_{aq} [HART et BOAG, 1962].

S'en suit l'étape physico-chimique (entre 10^{-15} s et 10^{-12} s) [TURNER, 2007] avec la radiolyse de l'eau entraînant la dissociation ou la recombinaison des molécules d'eau ionisées ou excitées. Cela a pour conséquence la génération d'espèces chimiques instables appelées produits radiolytiques dont font partie les radicaux libres. Ces radicaux libres sont hautement réactifs du fait que leurs cortèges électroniques possèdent un ou plusieurs électrons de valence non appariés. Ils ont donc une durée de vie très courte inférieure à la microseconde. Les molécules d'eau ionisées ou excitées peuvent se recombiner ou se dissocier en de nouvelles espèces chimiques comme H_2 , H_3O^+ , e^-_{aq} , OH^\bullet , H^\bullet comme indiqué sur la figure 1.13.

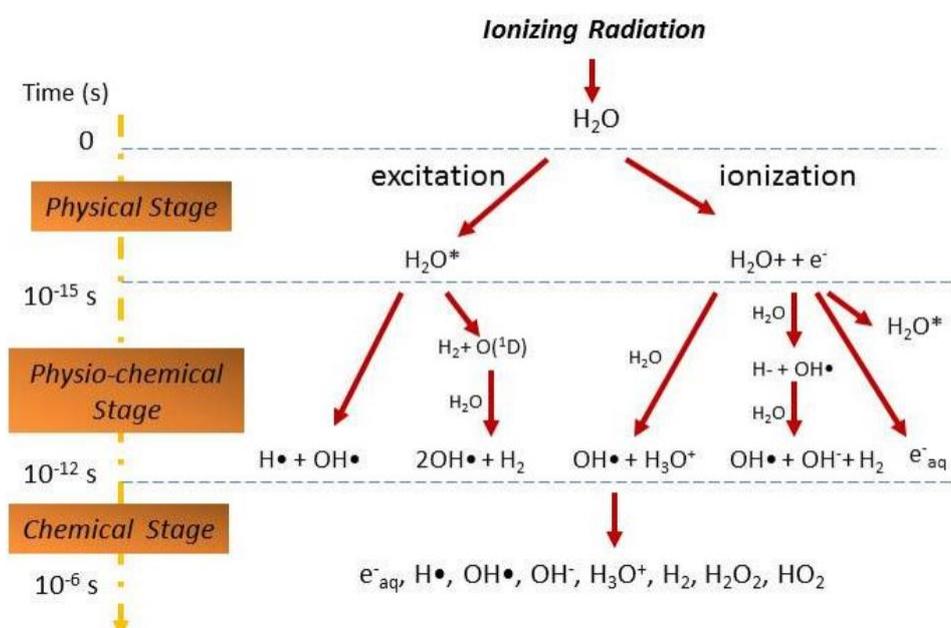


Figure 1.13 : Schéma illustrant la radiolyse de l'eau. Après le passage d'un rayonnement ionisant, la molécule d'eau devient excitée ou ionisée (jusqu'à 10^{-15} s). Elle se dissocie ou se recombine ensuite en d'autres espèces chimiques durant l'étape physico-chimique (10^{-15} s à 10^{-12} s). Puis, les radicaux libres diffusent et réagissent entre eux ou avec le milieu durant l'étape chimique (10^{-12} s à 10^{-6} s) (source : https://www.pnnl.gov/main/publications/external/technical_reports/PNNL-21554.pdf).

Il en découle l'étape chimique (entre 10^{-12} s et 10^{-6} s) [TURNER, 2007] au cours de laquelle, les radicaux diffusent et peuvent réagir entre eux ou avec les molécules du milieu.

Lorsque nous nous intéressons particulièrement aux dommages biologiques radio-induits sur la molécule d'ADN, sont distingués les dommages directs, produits lors de l'étape physique par un dépôt d'énergie qui a lieu entre le rayonnement ionisant et l'ADN, des dommages indirects issus de l'étape chimique et résultant de l'altération de la structure chimique de l'ADN par les radicaux libres.

1.2.2.1 Types de dommages des brins de l'ADN

Parmi les dommages à l'ADN, nous pouvons citer en particulier les lésions de type cassure simple brin (plus communément appelé « Single-Strand Break » ou SSB) qui surviennent lorsqu'un seul des deux brins de l'ADN est cassé et les lésions de type cassure double brins (plus communément appelé « Double-Strand Break » ou DSB) lorsque la lésion apparaît sur les deux brins et que ces cassures sont suffisamment proches [SCHIPLER et ILIAKIS, 2013].

Les cassures des brins de l'ADN interviennent au niveau du squelette de l'ADN et plus particulièrement dans la liaison phosphodiester entre le phosphate et le désoxyribose. La plupart des SSBs sont réparables et n'entraînent pas de dommages critiques [DIKOMEY et al. 1998], tandis que les DSBs sont plus difficilement réparés et sont de ce fait, considérés comme des lésions majeures [VIGNARD et al.,

2013]. En effet, ces DSBs entraînent la rupture de la double hélice de l'ADN et sont donc plus délétères pour le génome.

D'autres formes de dommages sont également possibles tels que les dommages de bases et les pontages protéine-ADN ou ADN-ADN. Les dommages de bases nucléotidiques ont le plus souvent lieu par attaque des radicaux libres sur les bases pouvant les rendre instables et entraîner leur décomposition ou leur réaction avec d'autres molécules du milieu. Les radicaux libres peuvent également entraîner la formation de pontages au sein de la même chaîne d'ADN (intra-chaîne), entre deux chaînes d'ADN différentes (inter-chaîne) ou bien entre l'ADN et les protéines environnantes.

Précisons que différents types de dommages à l'ADN comme les SSB, les DSB et les dommages aux bases peuvent être « combinés » lorsqu'ils se trouvent très proches spatialement ce qui a pour conséquence, l'apparition de dommages « complexes ». Plus la complexité des dommages est importante, plus la réparation est difficile.

Il est à préciser que, lors des calculs des dommages à l'ADN, la classification des dommages ainsi que leur complexité reste propre à chaque code de calcul. Par exemple, une des classifications possibles des dommages selon leur complexité [TALEEI et al., 2013] est représentée sur la figure 1.14.

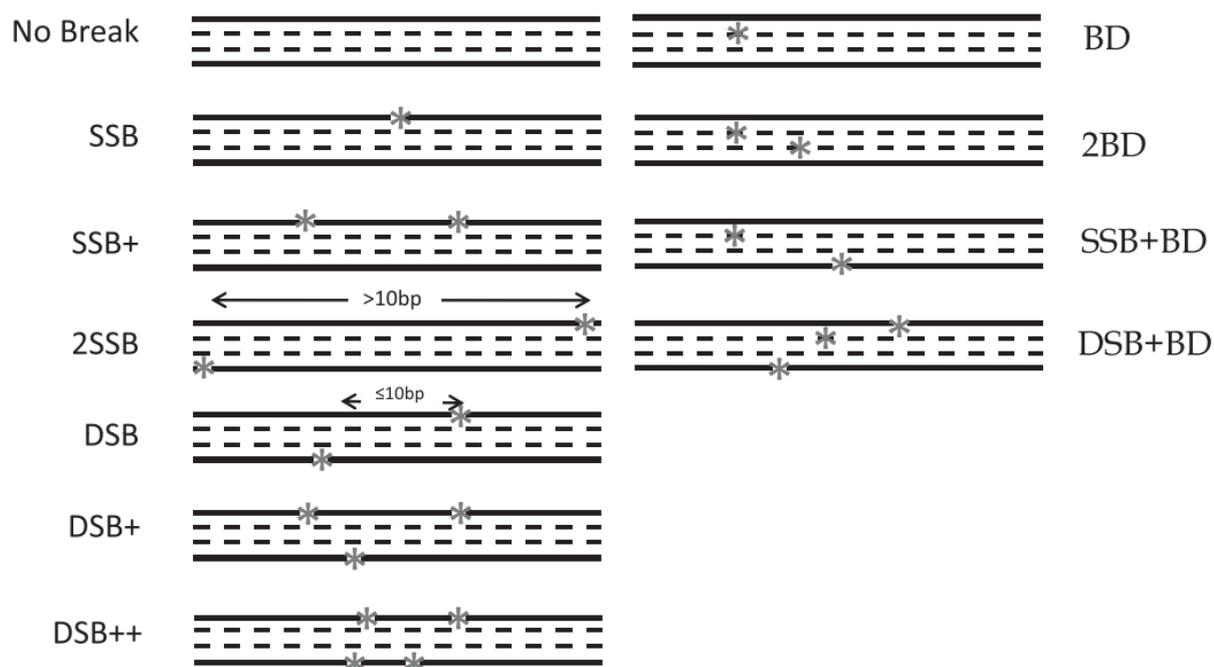


Figure 1.14 : Schéma illustrant une classification possible des dommages selon leur complexité [TALEEI et al., 2013].

Sur la figure 1.14, la double hélice d'ADN est représentée par quatre lignes. Les lignes en trait plein représentent le squelette de l'ADN (sucre-phosphate) et les lignes en pointillé représentent les bases de l'ADN. A gauche, les dommages concernent exclusivement le squelette de l'ADN tandis qu'à droite, sont représentés les dommages aux bases seuls ou avec addition de cassures de brins.

Etant donné que les codes de calcul possèdent leurs propres hypothèses et classification des dommages à l'ADN, un nouveau standard pour le calcul des dommages à l'ADN (« SDD ») a été proposé afin de faciliter les comparaisons entre les différents codes. Ce standard vise également à établir le lien entre les dommages à l'ADN des différents codes et les différents modèles de réparation cellulaire [Schuermann et al., 2019]. En effet, de nombreux codes Monte-Carlo ont été développés pour simuler les dommages à l'échelle de l'ADN. Parallèlement, plusieurs modèles décrivant la réparation des dommages à l'ADN ont été développés. Cependant, ces derniers sont intrinsèquement liés à la méthode de calcul des dommages employée. De ce fait, le « SDD » permettra d'unifier l'interface entre la simulation des dommages à l'ADN et la modélisation des processus de réparation de l'ADN mais également, d'évaluer l'influence des hypothèses adoptées par chaque code.

Suite aux dommages à l'ADN engendrés par les rayonnements ionisants, la cellule va mettre en place différents processus de réparation de ces dommages impliquant de multiples réactions enzymatiques. Cela définit l'étape biochimique qui a lieu entre 10^{-6} s et 1s-1h. Enfin, à la fin de cette étape de réponse biologique, des effets biologiques tels que les aberrations chromosomiques, les mutations ou la mort cellulaire, entre autres, peuvent être constatés lors d'une mauvaise ou non réparation des dommages voire même l'apparition d'un cancer de façon plus tardive.

1.2.2.2 Détection des cassures double brins de l'ADN

En général, parmi les différents types de dommages, les cassures double brins de l'ADN sont le plus souvent investiguées car ce sont les plus létales. Lors de l'induction d'un DSB, le déclenchement d'une cascade de signalisations apparaît. Dès lors, plusieurs protéines sont mobilisées et co-localisées au niveau du site du DSB. Comme mentionné précédemment, l'ADN est enroulé autour d'octamères d'histones (H2A, H2B, H3 et H4). Sur le site du DSB, le variant de l'histone H2A (H2AX) est phosphorylé (γ -H2AX) au niveau de la sérine 139 en particulier, par une protéine de réponse aux dommages nommée ATM (Ataxia Telangiectasia Mutated). Cela constitue notamment, l'une des premières étapes dans le recrutement et la localisation des protéines de réparation. La détection des γ -H2AX, qui se fait habituellement par immunofluorescence, traduit de manière indirecte les DSBs sous forme de foyers d'où le nom de foyers γ -H2AX [KUO et YANG, 2008]. La technique d'immunofluorescence consiste à utiliser des anticorps primaires spécifiques à la protéine de signalisation d'intérêt conjointement avec des anticorps secondaires couplés à un fluorochrome et dirigés contre les anticorps primaires. La détection des foyers dans un noyau cellulaire après irradiation peut s'effectuer par microscopie à fluorescence entre autres, comme nous pouvons le voir sur la figure 1.15.

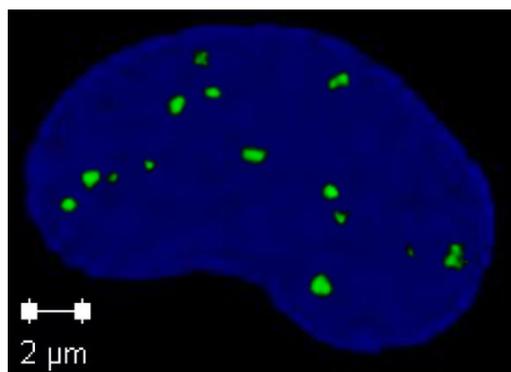


Figure 1.15 : Image par microscopie confocale montrant le nombre de foyers γ -H2AX (spots verts) dans un noyau cellulaire irradié (en bleu) [GRUEL et al., 2016].

D'autres méthodes peuvent être employées pour détecter les DSBs comme l'électrophorèse et le test des comètes (« comet assay »). Effectivement, la fréquence des DSBs augmente avec la dose d'irradiation ce qui va entraîner une augmentation du nombre de fragments de l'ADN ainsi qu'une diminution de leur taille. Une mesure de cette fragmentation de l'ADN permettrait donc de quantifier de façon indirecte les DSBs.

Dans la méthode de l'électrophorèse, les fragments d'ADN sont disposés dans un gel d'agarose ou de polyacrylamide puis soumis à un champ électrique. Les fragments d'ADN étant chargés négativement, vont migrer vers l'anode en fonction de leur taille. Lorsque l'ADN présente beaucoup de DSBs, les fragments seront de petite taille et migreront donc loin contrairement aux fragments de grande taille qui seront freinés. Cependant, cette technique nécessite une quantité importante d'ADN pour observer et quantifier la fragmentation et de ce fait, est réalisée sur de l'ADN provenant de plusieurs milliers de cellules.

Le test des comètes emploie également la technique de l'électrophorèse sur gel d'agarose. Lorsque l'ADN n'a pas été endommagé, il reste sous une forme super enroulée et sera révélé sous la forme d'une sphère compacte. Au contraire, si l'ADN a été endommagé, les fragments résultants vont migrer à côté du noyau et former une traînée assimilable à la queue d'une comète. Ce test permet d'évaluer les cassures d'ADN sur des cellules individualisées.

Cependant, pour obtenir des fragments d'ADN, il est nécessaire d'appliquer des doses d'irradiations élevées correspondant à plusieurs dizaines de Gy. Ces deux méthodes, étant basées sur la fragmentation de l'ADN, sont donc peu sensibles et pas adaptées lorsque l'on veut étudier les DSB à des doses plus faibles.

1.3 Les méthodes de Monte-Carlo appliquées à la radiobiologie

A présent, nous allons nous intéresser aux différents codes de calcul permettant de simuler les dommages radio-induits à l'ADN et plus spécifiquement au code Monte-Carlo utilisé dans ce travail de thèse. Les différents codes de simulation seront brièvement présentés avec une attention particulière pour le code Geant4/Geant4-DNA qui a été utilisé dans ce travail de thèse.

1.3.1 Les codes Monte-Carlo

Etant donné que les interactions des rayonnements ionisants sont stochastiques, les simulations employant les méthodes de Monte-Carlo sont très utiles pour la compréhension des mécanismes d'interaction des rayonnements avec la matière.

Les différents codes Monte-Carlo utilisés pour le transport des particules dans la matière peuvent être distingués en deux catégories :

- Les codes de transport de particules dits « généralistes », qui sont utilisés traditionnellement en dosimétrie ainsi que dans d'autres domaines de la physique. Ils utilisent la technique de l'histoire condensée. Cette technique permet de réduire les temps de calcul en ne simulant pas l'intégralité des interactions ayant lieu durant l'histoire d'une particule, en particulier, des électrons, qui sont des particules souvent secondaires produites en grande quantité lors des interactions et qui subissent des très nombreuses réactions inélastiques et élastiques dans la matière. Ainsi, les interactions individuelles de ces électrons peuvent être regroupées en différents « ensembles » d'interactions en utilisant la théorie de la diffusion multiple. Un des exemples de code utilisant cette approche est le code EGSnrc (Electron-Gamma-Shower) [KAWRAKOW, 2000].
- Les codes de structure de trace qui permettent de simuler de manière explicite chaque interaction et donc, de connaître avec précision, la topologie des dépôts d'énergie au niveau cellulaire et subcellulaire. Dans le domaine de la radiobiologie, ces codes seront donc plus adaptés que les codes n'utilisant que la technique de l'histoire condensée et ce, surtout aux basses énergies (< keV) et dans les géométries de petites dimensions (< micromètre).

1.3.1.1 Principe des codes de structure de trace

Simulation de l'étape physique

Dans le cas des codes de structure de trace, toutes les interactions physiques de chaque particule sont simulées le long de chaque trace. Les interactions des particules ionisantes avec le milieu sont décrites par des sections efficaces permettant de déterminer la probabilité de collision entre une particule incidente et une particule cible. Pourtant, ces informations sont difficiles à obtenir expérimentalement pour certains types de matériaux mais aussi pour certaines gammes d'énergie pour un type de particule donné. En effet, très peu de données sont disponibles pour des matériaux tels que l'ADN. Néanmoins, l'eau liquide est une bonne approximation des biomolécules, les cellules étant constituées principalement d'eau liquide (80% en masse) [CHAMPION, 2003]. Cependant, il reste également difficile d'obtenir des données expérimentales dans l'eau liquide. En effet, la majeure partie des données expérimentales a été mesurée dans la vapeur d'eau ou dans la glace.

De ce fait, les modèles physiques concernant l'eau liquide résultent d'une combinaison entre le peu de données expérimentales dans l'eau liquide dans la limite optique [HELLER et al., 1974 ; HAYASHI et al., 1998] et des données expérimentales pour la vapeur d'eau. Les modèles employés dans le code Geant4-DNA (Cf. Section 1.3.1.3), utilisé dans ce travail, seront présentés ainsi que leur validité en gamme d'énergie.

Simulation des étapes physico-chimique et chimique

La modélisation des étapes physico-chimique et chimique est une étape importante dans la simulation des dommages à l'ADN. En effet, les radicaux libres issus de la radiolyse de l'eau peuvent réagir avec le milieu et notamment altérer chimiquement la molécule d'ADN, d'où la nécessité de simuler leur création, leur diffusion, et leurs réactions [O'NEILL et WARDMAN, 2009].

Comme expliqué plus haut, la simulation des étapes physico-chimique et chimique correspond en particulier à la modélisation de la dissociation/recombinaison des molécules d'eau ionisées ou excitées, de la diffusion et des réactions chimiques des radicaux libres entre eux et/ou avec le milieu.

Différents canaux de dissociation sont employés pour simuler l'étape physico-chimique et ceux utilisés dans Geant4-DNA seront détaillés (Cf. Section 1.3.1.3). De façon générale, deux grandes méthodes sont utilisées pour la simulation de l'étape chimique : la méthode des pas en temps dynamiques (« step-by-step », SBS), et la méthode dite de temps de réaction indépendant (« Independent Reaction Time », IRT).

Méthode de pas en temps dynamiques (SBS)

Le principe de la méthode pas-à-pas consiste à diffuser toutes les espèces chimiques considérées durant un même pas en temps [MICHALIK et al., 1998 ; KREIPL et al., 2009 ; KARAMITROS et al., 2011]. Suite à la diffusion, la distance séparant chacune des paires de molécules est calculée pour savoir si une réaction est survenue ou non. Les pas sont calculés en fonction d'un pas en temps minimal permettant à la paire de molécules les plus proches d'être à une distance suffisante pour qu'il y ait

réaction. A chaque pas en temps, la position de chaque espèce chimique est calculée. De ce fait, cette approche pas-à-pas présente des inconvénients en termes de temps de calcul.

Méthode de temps de réaction indépendant (IRT)

Dans la méthode de temps de réaction indépendant (IRT) [CLIFFORD et al., 1984 ; CLIFFORD et al., 1986 ; GREEN et al., 1990], un temps de « rencontre » entre deux molécules est déterminé de façon aléatoire à partir seulement de leur position respective. Dans cette méthode, la position des molécules n'est pas calculée en fonction du temps, ce qui lui confère un gain considérable en temps de calcul par rapport à la méthode des pas dynamiques en temps présentée précédemment. Une probabilité de réaction entre deux molécules est calculée et lorsqu'il y a réaction, un temps de réaction est échantillonné. A chaque création d'une nouvelle molécule, un temps de « rencontre » est calculé. Une table est alors construite et les réactions y sont classées par temps de rencontre croissante. Notons que, pour des systèmes à deux particules, les méthodes IRT et SBS donnent des résultats identiques. Cependant, bien que l'IRT permette un gain en temps de calcul par rapport à la méthode pas-à-pas, le transport des molécules n'est pas explicitement simulé du fait que la position des espèces chimiques n'est pas calculée en fonction du temps [PLANTE et DEVROYE, 2017]. Par conséquent, l'influence de la présence d'autres molécules sur la probabilité de réaction d'une paire donnée n'est pas explicitement prise en compte, ce qui pourrait induire des erreurs dans la simulation des réactions [STEPAN et DAVIDKOVA, 2006].

1.3.1.2 Les différents codes de structure de trace

Une revue des différents codes de structure de trace existants dans la littérature a été réalisée en 2006 par Nikjoo et ses collaborateurs [NIKJOO et al., 2006] et une mise à jour de celle-ci a été effectuée dans ce travail comme présentée dans le tableau 1.1. La plupart de ces codes permettent la simulation de l'ensemble des étapes physique, physico-chimique et chimique, le plus souvent dans l'eau et pour différents types de particules.

A titre d'exemple, parmi les codes listés dans le tableau 1.1, nous pouvons citer en particulier les codes KURBUC et PARTRAC qui font références dans la communauté et qui sont toujours maintenus. Le code Geant4-DNA utilisé lors de cette thèse, sera présenté plus en détail (Cf. Section 1.3.1.3).

KURBUC (Kyūshū University and Radiobiology Unit Code)

Le code KURBUC a été introduit en 1993 par Uehara et al. [UEHARA et al., 1993] et comprend plusieurs codes permettant le transport de différentes particules comme les électrons, les protons, les alphas et les ions carbone. Initialement, KURBUC permettait la simulation du transport des électrons dans la vapeur d'eau. Par la suite, d'autres codes ont été développés et ont été intégrés à KURBUC : le code LEPHIST [UEHARA et al., 2001] a permis le transport des protons de 1 keV à 300 MeV et le code LEAHIST

[UEHARA et NIKJOO, 2002] a permis le transport des particules alphas de 1 keV/u à 2 MeV/u. Egalement, une extension de KURBUC nommée CHEMKURBUC permet la simulation des étapes physico-chimique et chimique en utilisant l'approche pas-à-pas. KURBUC intègre notamment des modèles permettant la réparation des cassures double brins de l'ADN en fonction du temps.

PARTRAC (PARTicle TRACKs)

Ayant pour objectif l'étude des effets biologiques causés par les rayonnements ionisants, le code PARTRAC a été développé par Friedland et al. [FRIEDLAND et al., 2003] au centre de recherche allemand « Helmholtz Zentrum München ». Il permet le transport de nombreux types de particules comme les électrons, les protons, les alphas et les ions lourds. PARTRAC permet la simulation des étapes physico-chimique et chimique en utilisant l'approche pas-à-pas. De plus, PARTRAC dispose de géométries détaillées de noyaux cellulaires à l'échelle atomique permettant de calculer les dommages à l'ADN et des modules permettant de calculer la réparation des dommages à l'ADN et les aberrations chromosomiques [FRIEDLAND et al., 2013 ; FRIEDLAND et al., 2017].

1.3.1.3 Geant4/Geant4-DNA

Geant4 (Geometry And Tracking) [AGOSTINELLI et al., 2003 ; ALLISON et al., 2006 ; ALLISON et al., 2016] est une boîte à outils « open source » utilisant la programmation orientée objet C++. Ce code permet à un utilisateur, de créer sa propre application pour simuler le transport de particules à travers la matière par méthode Monte-Carlo. Geant4 a été initialement développé par une collaboration internationale composée de physiciens et d'informaticiens pour les besoins des expériences de physique de haute énergie du CERN et distribué publiquement en 1998. Cet outil, régulièrement mis à jour, possède de nombreux domaines d'application comme l'astrophysique, la physique nucléaire, la physique des particules et notamment la physique médicale ainsi que la radioprotection. Geant4 peut utiliser à la fois l'approche de l'histoire condensée et l'approche pas-à-pas.

Geant4-DNA

Le projet Geant4-DNA [INCERTI et al., 2010a ; INCERTI et al., 2010b ; BERNAL et al., 2015 ; INCERTI et al., 2018] est porté par une collaboration internationale visant à étendre Geant4. Il a été initialement lancé en 2001 par l'Agence Spatiale Européenne (ESA, P. Nieminen) dans le but de pouvoir simuler les dommages biologiques induits par les rayonnements cosmiques aux échelles cellulaire et subcellulaire.

Dans le cadre de cette extension, le projet Geant4-DNA comporte trois principaux axes de développement :

1. Extension de la physique électromagnétique de basse énergie de Geant4 afin de simuler les dépôts d'énergie à l'échelle cellulaire et subcellulaire (étape physique) en utilisant une approche de calcul de type structure de trace,
2. Développement de modèles permettant de simuler la création, la diffusion et les réactions des espèces chimiques (étapes physico-chimique et chimique),
3. Modélisation de géométries détaillées de l'ADN ou d'autres cibles biologiques dans le but de pouvoir calculer les dommages biologiques induits dans celles-ci.

Tableau 1.1 : Liste succincte de différents codes Monte-Carlo de structure de trace.

Code	Particules	Gamme d'énergie	Milieux considérés	Simulation des étapes physique/physico-chimique/chimique	Référence
CPA100	e^-	Thermalisation - 256 keV e^-	Eau (l), ADN	Oui	Terrissol et Beaudré (1990)
DELTA	e^-	≥ 10 eV - 10 keV e^-	Eau (v)	Oui	Zaider et al. (1983)
EPOTRAN	e^- , e^+	$\geq 7,4$ eV - 10 keV	Eau (l,v)	Non	Champion et al. (2012)
ETRAK ETS	e^- , p, α e^-	≥ 10 eV - 10 keV e^- ≥ 10 eV - 10 keV	Eau (v) Eau (l,v)	Oui Oui	Ito (1987) Hill et Smith (1994)
Geant4-DNA	e^- , e^+ , p, H, α , ions	Thermalisation - 1 MeV e^- / 100 eV - 100 MeV p, H / 1 keV - 400 MeV α / 0,5 MeV/u - 10^6 MeV/u ions	Eau (l), ADN	Oui	Incerti et al. (2010a)
IONLYS/IONLYS-IRT	e^- , p, ions	0,2 eV - 150 keV e^- , p 0,1 MeV - 300 MeV	Eau (l)	Oui	Cobut (1998)
KAPLAN	e^-	≥ 1 - 10 keV e^-	Eau (l,v)	Oui	Kaplan et al. (1990)
KITrack	e^- , ions	≥ 10 eV - 100 keV	Eau (l)	Non	Wiklund et al. (2011)
KURBUC codes (LEAHIST/LEPHIST/CHEM-KURBUC)	e^- , p, α , ions carbone	10 eV - 10 MeV e^- , α 1 keV/u - 2 MeV/u, p 1 keV - 300 MeV, ions carbone 1 keV/u - 10 MeV/u	Eau (l,v)	Oui	Uehara et al. (1993)
LEEPS	e^- , e^+	0,1 - 100 keV	Plusieurs matériaux	Non	Fernández-Varea et al. (1996)
LEPTS	e^- , e^+ , p	Thermalisation - 10 keV e^- , Thermalisation - 10 MeV p	Eau (v), CH ₄ , C ₂ H ₄ , C ₄ H ₈ O, SF ₆ , C ₄ H ₄ N ₂	Non	Sanz et al. (2012), Blanco et al. (2013)
LionTrack	e^- , p, ions	50 eV - ? e^- , 0,5 MeV/u - 300 MeV/u p, ions	Eau (l)	Non	Bäckström et al. (2013)
LQD	e^- , ions	Thermalisation - ? e^- , 1 MeV/u - 65 MeV/u ions	Eau (l)	Oui	Gervais et al. (2005)

MC4	e ⁻ , ions	≥ 10 eV e ⁻ , ions ≥ 0,3 MeV/u	Eau (l,v)	Non	Emfietzoglou et al. (2003)
MOCA8B	e ⁻	10 eV - 100 keV e ⁻	Eau (l,v)	Oui	Paretzke (1987)
NASIC	e ⁻	Thermalisation - 1 MeV e ⁻	Eau (l)	Oui	Li et al. (2015)
NOTRE DAME	e ⁻ , ions	≥ 10 eV e ⁻ , ions ≥ 0,3 MeV/u	Eau (l,v)	Oui	Pimblott et al. (1990)
OREC/NOREC	e ⁻	7,4 eV - 1 MeV e ⁻	Eau (l)	Non	Semenenko et al. (2003)
PARTRAC	e ⁻ , e ⁺ , p, H, α, ions	1 eV - 10 MeV e ⁻ / 1 keV - 1 GeV p, H, α / 1 MeV/u - 1 GeV/u ions	Eau (l), ADN	Oui	Friedland et al. (2003)
PITS04	e ⁻ , ions	≥ 10 eV e ⁻ , ions ≥ 0,3 MeV/u	Eau (l)	Non	Wilson et al. (2004)
PITS99	e ⁻ , ions	≥ 10 eV e ⁻ , ions ≥ 0,3 MeV/u	Eau (v)	Oui	Wilson et Nikjoo (1999)
Ptra	e ⁻ , p, α	1 eV - 10 keV e ⁻ , 300 keV - 10 MeV p, 1 MeV - 10 MeV α	Eau (l,v), ADN	Non	Grosswendt et Pszona (2002)
RITRACKS/RETRACKS	e ⁻ , ions	0,1 eV - 100 MeV e ⁻ , ions 10 ⁻¹ MeV/u - 10 ⁴ MeV/u	Eau (l,v)	Oui	Plante et Cucinotta (2009)
SHERBROOKE	e ⁻ , ions	≥ 10 eV e ⁻ , ions ≥ 0,3 MeV/u	Eau (l,v)	Oui	Cobut et al. (2004)
STBRGEN	e ⁻ , ions	≥ 10 eV e ⁻ , ions ≥ 0,3 MeV/u	Eau (l,v)	Oui	Chatterjee et Holley (1993)
TILDA-V	e ⁻ , p, H, ions	≥ 7,4 eV e ⁻ , ions 10 keV/u - 100 MeV/u	Eau (l,v), ADN	Non	Champion et al. (2005)
TRAX/TRAX-CHEM	e ⁺ , p, ions	1 eV - quelques MeV e ⁻ , ions 10 eV - centaines de MeV	Eau (v)	Oui	Krämer et Kraft (1994)
RADAMOL (TRIOL/STOCHECO)	e ⁻ , ions	≥ 7,4 eV - 2 MeV e ⁻ , ions ≥ 0,3 - 200 MeV/u	Eau (l)	Oui	Bigildeev et Michalik (1996)
TRION	e ⁻ , ions	≥ 10 eV e ⁻ , ions ≥ 0,3 MeV/u	Eau (l,v)	Non	Lappa et al. (1993)
TRACEL (RADYIE/RADIFF)	e ⁻ , ions	≥ 10 eV e ⁻ , ions ≥ 0,3 MeV/u	Eau (l,v)	Oui	Tomita et al. (1997)

Les lettres l et v correspondent à l'eau liquide et à la vapeur d'eau respectivement.

Simulation de l'étape physique

Durant cette thèse, deux versions de Geant4 ont été utilisées : la version 10.1.p02 et la version 10.2.p02. Dans ces deux versions, Geant4-DNA inclut des processus physiques et des modèles permettant de transporter les particules dans l'eau liquide jusqu'à très basse énergie (quelques eV) et ce, de manière discrète (pas-à-pas). A la différence des codes de structure de trace « privés », Geant4/Geant4-DNA intègre plusieurs modèles physiques offrant ainsi la possibilité aux utilisateurs, d'utiliser les modèles les plus adaptés pour leurs applications. Les processus physiques ainsi que les modèles utilisés sont brièvement présentés pour les différentes particules d'intérêt, à savoir les électrons, les protons, les atomes d'hydrogène et les atomes d'hélium [INCERTI et al., 2010a].

a) Cas des électrons : e^-

Pour les électrons, les processus physiques incluent les interactions élastiques (diffusion élastique), les interactions inélastiques (excitation électronique, ionisation), l'excitation vibrationnelle ainsi que l'attachement dissociatif.

La diffusion élastique correspond aux interactions n'entraînant pas de pertes d'énergie (interaction inélastique) mais des changements de direction de la particule. Cette diffusion peut être simulée par différents modèles dans Geant4 :

- Le modèle de « *Champion* » qui est basé sur la méthode des ondes partielles [CHAMPION et al., 2009]
- Le modèle « *Screened Rutherford* » basé sur le modèle d'écran de Rutherford [EMFIETZOGLOU et al., 2003] qui est valable pour les électrons ayant une énergie supérieure ou égale à 200 eV. Pour les énergies inférieures à 200 eV, les sections efficaces différentielles de diffusion élastique sont obtenues par l'approche semi-empirique de Brenner et Zaider [BRENNER et ZAIDER., 1983].

Notons que le modèle de « *Champion* » a été développé spécifiquement pour l'eau liquide tandis que le modèle « *Screened Rutherford* » a été développé pour la vapeur d'eau et étendu à l'eau liquide.

En ce qui concerne les interactions inélastiques, les électrons perdent leur énergie par excitation électronique ou ionisation. Leurs sections efficaces ont été déterminées par la théorie de Bethe en se basant sur la première approximation de Born [INCERTI, 2010]. Cette méthode permet de décrire les interactions des particules chargées dans l'eau liquide et a été proposée par Dingfelder [DINGFELDER et al., 1998]. Elle repose sur l'utilisation du formalisme diélectrique basé sur des données optiques de Heller et al. [HELLER et al., 1974].

Enfin, l'excitation vibrationnelle et l'attachement dissociatif sont les seuls processus permettant la perte d'énergie des électrons dans le milieu lorsque les électrons ont des énergies inférieures à celle de la première couche d'excitation de l'eau (8,22 eV). Les sections efficaces pour l'excitation

vibrationnelle ont été obtenues expérimentalement par Michaud et Sanche dans la glace [MICHAUD et al., 2003]. Pour l'attachement dissociatif, les sections efficaces ont été obtenues à partir du modèle de Melton [MELTON, 1972] dans la vapeur d'eau.

Les différents modèles des processus physiques pour les électrons permettent la simulation de ces particules de la thermalisation jusqu'à 1 MeV.

b) Cas des protons : H^+

Pour les protons (H^+), les atomes d'hydrogène (H) et les différents états de charge des atomes d'hélium (He^0 , He^+ et He^{2+}), l'ionisation, l'excitation électronique et les échanges de charge (augmentation et diminution de charge) sont considérés. Les interactions élastiques ne sont pas prises en compte et le parcours de ces particules est donc rectiligne.

Les sections efficaces pour l'ionisation ont été calculées à partir de deux modèles : le modèle semi-empirique de Rudd [RUDD et al., 1985] pour le cas des protons lents (< 500 keV) et la première approximation de Born et le formalisme diélectrique pour le cas des protons rapides (> 500 keV), cas où les protons ont une vitesse très grande par rapport à la vitesse des électrons orbitaux de l'atome cible.

Pour l'excitation et pour les protons lents, le modèle semi-empirique de Miller et Green [MILLER et al., 1973] est utilisé. Pour les protons rapides, la même approche que dans le cas de l'ionisation est utilisée.

Le transfert de charge intervient lorsque les protons ont une énergie faible. Un électron est alors capté par le proton incident entraînant ainsi la formation d'un atome d'hydrogène. Pour ce processus, le modèle de Dingfelder est utilisé [DINGFELDER et al., 2000].

Les protons sont transportés de 10 eV à 100 MeV.

c) Cas des atomes d'hydrogène : H

Après capture d'un électron par un proton incident, l'atome d'hydrogène formé peut à son tour ioniser ou exciter le milieu. Pour l'ionisation, l'approche semi-empirique de Rudd est utilisée alors que pour l'excitation, le modèle de Miller et Green est pris en compte. Egalement, l'atome d'hydrogène peut subir une augmentation de charge en perdant un électron et retrouver un état d'ion. Pour cela, le modèle de Dingfelder est appliqué.

La validité de la gamme en énergie des atomes d'hydrogène s'étend, comme pour les protons, de 10 eV à 100 MeV.

d) Cas des atomes d'hélium et leurs différents états de charge : He⁰, He⁺ et He²⁺

Tout comme pour le cas des protons, l'approche semi-empirique de Miller et Green est utilisée pour l'excitation, l'approche semi-empirique de Rudd pour l'ionisation et l'approche de Dingfelder pour les transferts de charges (augmentation et diminution de charge).

Les différents états de charge des atomes d'hélium sont transportés de 1 keV à 400 MeV.

Simulation des étapes physico-chimique et chimique

Lors de l'étape physico-chimique, les molécules d'eau ionisées ou excitées peuvent se dissocier en de nouvelles espèces chimiques suivant différents canaux de dissociation. Notamment, le retour vers la stabilité d'une molécule excitée peut s'effectuer avec l'émission d'un photon (γ). Ces canaux et leurs probabilités correspondantes implémentés dans Geant4-DNA sont représentés dans le tableau 1.2.

Tableau 1.2 : Les différents canaux de dissociation des molécules d'eau dans Geant4-DNA [KARAMITROS et al., 2011].

Etat électronique	Canaux de dissociation	Probabilité
Tous les états d'ionisations	Ionisations OH [•] + H ₃ O ⁺	100%
A ¹ B ₁	Excitations OH [•] + H [•]	65%
	H ₂ O + γ	35%
B ¹ A ₁	OH [•] + H ₃ O ⁺ + e ⁻ _{aq}	55%
	H ₂ + 2 OH [•]	15%
	H ₂ O + γ	30%
Rydberg	OH [•] + H ₃ O ⁺ + e ⁻ _{aq}	50%
	H ₂ O + γ	50%

Pour l'étape chimique dans Geant4-DNA, l'approche pas-à-pas est utilisée. Cette approche est basée sur une représentation particule-continuum non compartimentée en utilisant les équations de Fokker-Planck et notamment celle de Smoluchowski permettant ainsi l'évolution spatio-temporelle des espèces chimiques jusqu'à la microseconde. Dans cette méthode, les molécules chimiques sont considérées comme des sphères diffusant de façon indépendante les unes des autres au sein d'un milieu isotrope d'eau. Suite à cette diffusion, la distance entre les molécules deux à deux est calculée afin de déterminer si une réaction a lieu ou non.

Pour simuler l'évolution des espèces chimiques, l'approche de Geant4-DNA se base sur la théorie de diffusion de Smoluchowski, dont l'équation à trois dimensions est la suivante :

$$\frac{\partial p}{\partial t}(\vec{r}, t) = \vec{\nabla} D \cdot [\vec{\nabla} - \beta \vec{F}(\vec{r})] p(\vec{r}, t) \quad (1.12)$$

Avec $p(\vec{r}, t)$ la densité de probabilité de la position r d'une molécule au temps t , D le coefficient de diffusion (en $\text{cm} \cdot \text{s}^{-2}$), $\vec{F}(\vec{r})$ une force extérieure, $\beta = \frac{1}{k_B T}$, k_B la constante de Boltzmann et T la température.

La densité de probabilité de la distribution de la position d'une molécule, initialement à l'origine, après un temps t est alors donnée par :

$$p(\vec{r}, t) = \frac{4\pi r^2}{(4\pi Dt)^{3/2}} \cdot \exp\left(-\frac{r^2}{4Dt}\right) \quad (1.13)$$

Cependant, lorsque l'on veut prédire ou calculer de façon aléatoire un temps de réaction entre deux molécules, l'équation 1.13 est réduite à une dimension afin d'obtenir une fonction de répartition plus facilement inversable par rapport au temps :

$$p(x, t) = \frac{1}{(4\pi Dt)^{1/2}} \cdot \exp\left(-\frac{x^2}{4Dt}\right) \quad (1.14)$$

L'équation 1.14 permet donc de calculer le temps minimal de diffusion t_{min} , c'est-à-dire, le temps correspondant à la rencontre de deux molécules les plus proches.

La fonction de répartition est :

$$P(x \leq r) = \int_0^r p(x, t) dx = \left[\text{erf}\left(\frac{x}{2\sqrt{Dt}}\right) \right]_0^r = \text{erf}\left(\frac{r}{2\sqrt{Dt}}\right) \quad (1.15)$$

Avec :

$$\text{erf}(x) = \frac{2}{\sqrt{\pi}} \int_0^x \exp(-s^2) ds \quad (1.16)$$

Soient :

- d_0 la distance séparant deux molécules A et B à un temps initial t_0 ,
- d_{min} la distance minimale que les molécules A et B doivent parcourir pour qu'elles se rencontrent après le temps t_{min} tel que $d_{min} = d_A(t_{min}) + d_B(t_{min})$ avec $d_A(t_{min})$ et $d_B(t_{min})$, les distances de diffusion des molécules A et B,
- t_{min} le temps minimal pour que les molécules A et B se rencontrent à une distance R,

En considérant que la molécule diffuse sans réagir avec un intervalle de confiance de 95%, alors on a :

$$P(x \leq d_{min}) = 0,95 \quad (1.17)$$

Sachant que $\text{erf}(\sqrt{2}) \approx 0,95$ et d'après l'équation 1.15 :

$$P(d \leq r) = \text{erf}\left(\frac{d_{95}}{2\sqrt{Dt}}\right) \approx 0,95 \Rightarrow \frac{d_{95}}{2\sqrt{Dt}} \approx \sqrt{2} \Rightarrow d_{95} = 2\sqrt{2Dt} \quad (1.18)$$

La distance minimale d_{min} doit satisfaire l'équation suivante :

$$d_0 - d_{min} = R \Rightarrow d_0 - R = [d_A(t_{min}) + d_B(t_{min})] \quad (1.19)$$

En définissant $d_A(t_{min})$ et $d_B(t_{min})$ comme $d_{95,A}$ et $d_{95,B}$ on obtient alors :

$$d_0 - R = 2\sqrt{2D_A t_{min}} + 2\sqrt{2D_B t_{min}} \quad (1.20)$$

D'où :

$$t_{min} = \frac{(d_0 - R)^2}{16(\sqrt{D_A} + \sqrt{D_B})^2} \quad (1.21)$$

Cette dernière équation 1.21 permet d'estimer un pas en temps associé à chaque paire de molécules. Parmi ces différents pas en temps, le temps minimal de rencontre est sélectionné. Ce temps minimal est alors utilisé pour diffuser toutes les molécules.

La valeur de R pour chaque couple de molécules est obtenue à partir de l'équation suivante :

$$R = \frac{k}{4\pi N_A D} \quad (1.22)$$

Avec k la vitesse de réaction, N_A le nombre d'Avogadro et D la somme des coefficients de diffusion des deux réactifs.

De façon générale, la méthode pas-à-pas présente des inconvénients au niveau des temps de calcul. Afin de limiter au maximum ces temps de calcul, une restriction de la taille minimale (t_{lim}) du pas en temps est utilisée. En effet, cela permet d'éviter de simuler des pas en temps trop petits pendant lesquels, aucune réaction n'a lieu. Les valeurs des temps limites appliqués dans Geant4-DNA se retrouvent dans le tableau 1.3. Lorsque le temps de la simulation se situe dans un certain intervalle de temps, un pas en temps limite t_{lim} est appliqué. Pour des temps de simulation inférieurs à 10^{-11} s, la distribution spatiale des molécules chimiques est condensée, impliquant une certaine proximité des molécules. De ce fait, la probabilité qu'une molécule en rencontre une autre est élevée et le pas en temps minimal doit donc être petit. Au contraire, lorsque le temps de simulation augmente, les molécules diffusent et la distribution des molécules devient de plus en plus homogène dans le milieu entraînant une diminution de la probabilité de rencontrer une molécule. Le pas en temps peut donc être augmenté. Lorsque t_{min} est plus petit que t_{lim} , t_{lim} est conservé pour la diffusion de chaque

molécule. Afin de déterminer si une réaction a eu lieu, une approche dite de « Pont Brownien » [PIMBLOTT et LAVERNE, 1992] est appliquée. Cette approche utilise un calcul probabiliste donné par :

$$P_{Br}(dt) = \exp \frac{-(x_f - R)(x_0 - R)}{D_{A+B} \cdot dt} \frac{k}{4\pi N_A D} \quad (1.23)$$

où D_{A+B} est la somme des coefficients de diffusion des deux molécules A et B considérés, R le rayon de réaction, x_0 et x_f les distances de séparation des deux molécules avant et après le pas en temps respectivement.

Les coefficients de diffusion pour les espèces chimiques dans Geant4-DNA sont représentés dans le tableau 1.4 [KARAMITROS et al., 2011].

Tableau 1.3 : Limites des pas en temps dans Geant4-DNA [KARAMITROS et al., 2011].

Intervalle de temps (s)	Pas en temps minimal, t_{lim} (ps)
$< 10^{-11}$	0,1
$10^{-11} - 10^{-10}$	1
$10^{-10} - 10^{-9}$	3
$10^{-9} - 10^{-8}$	10
$> 10^{-8}$	100

Tableau 1.4 : Coefficients de diffusion pour les espèces chimiques dans Geant4-DNA [KARAMITROS et al., 2011].

Espèce chimique	Coefficient de diffusion ($10^{-9}m^2s^{-1}$)
e_{aq}^-	4,9
OH^\bullet	2,8
H^\bullet	7,0
H_3O^+	9,0
H_2	4,8
OH^-	5,0
H_2O_2	2,3

1.3.2 Modèles géométriques de l'ADN pour la simulation

Depuis la fin des années 1980 jusqu'à présent, divers modèles géométriques de l'ADN ont été développés en suivant différentes approches allant d'une simple représentation géométrique de la double hélice de l'ADN à des géométries multi-échelles beaucoup plus complexes.

Les premiers modèles de l'ADN, du nucléosome ou bien de la fibre de chromatine, n'étaient représentés que par des fantômes de formes géométriques simples comme des cylindres ou des sphères avec une taille inférieure à la centaine de nanomètres [NIKJOO et al., 1989]. NIKJOO et al. ont ensuite utilisé le code MOCA8 pour simuler les dépôts d'énergie induits par les particules ionisantes à l'intérieur de ces géométries simples.

Puis, Charlton et al. [CHARLTON et al., 1989] ont développé un modèle plus réaliste en distinguant les bases de l'ADN et le squelette de l'ADN formé par les groupements désoxyribose-phosphate. Pour cela, un cylindre de 2,3 nm a été subdivisé en trois cylindres de plus petit volume. L'un des cylindres est un cylindre central de 1 nm de diamètre servant à la modélisation du volume occupé par les paires de bases. Ensuite, deux autres volumes semi-cylindriques avec une hauteur de 0,34 nm, un rayon interne de 0,5 nm et un rayon externe de 1,15 nm sont placés de manière à entourer le cylindre central. Ces deux volumes semi-cylindriques représentent les groupes sucre/phosphate de chaque brin d'ADN. Ce modèle est illustré sur la figure 1.16.

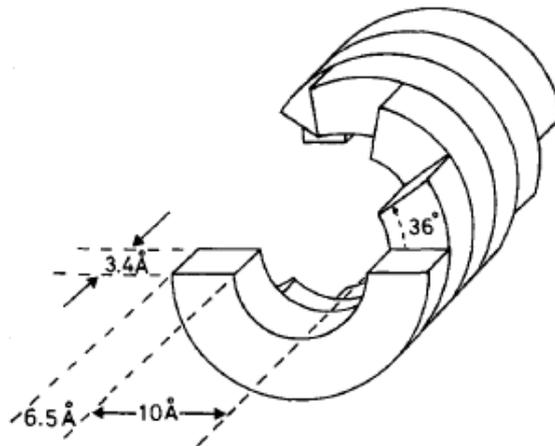


Figure 1.16 : Modèle d'ADN utilisée par Charlton et al. [CHARLTON et al., 1989].

En 1991, Pomplun génère un modèle d'ADN basé sur les coordonnées individuelles des atomes d'ADN de Chandrasekaran et Arnott [CHANDRASEKARAN et ARNOTT, 1989] permettant ainsi une grande résolution géométrique [POMPLUN, 1991]. Un volume virtuel cylindrique enveloppant les nucléotides du segment d'ADN représente le volume d'intérêt pour la prise en compte des dépôts d'énergie comme schématisé sur la figure 1.17.

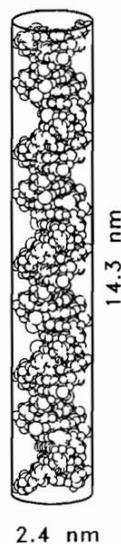


Figure 1.17 : Modèle d'un segment d'ADN de 14,3 nm développé par Pomplun [POMPLUN, 1991].

En 1993, Pinak et Ito [PINAK et ITO, 1993] considèrent un « modèle structurel » de l'ADN comme représenté sur la figure 1.18. Ce modèle prend en compte les positions spatiales et les liaisons des atomes dans la molécule d'ADN dans sa conformation ADN-B, de même que les volumes sensibles de chaque nucléotide, à savoir le phosphate, le désoxyribose, la base de l'ADN et les liaisons hydrogène reliant les nucléotides de brin opposé. Ces volumes sensibles sont définis comme étant des surfaces contenant tous les atomes correspondants excepté les atomes d'hydrogène. Par exemple, pour le phosphate, tous les atomes de la liaison phosphodiester sont inclus dans le volume sensible. Les coordonnées des atomes proviennent des fichiers PDB (*Protein Data Bank*) du Laboratoire National Brookhaven.

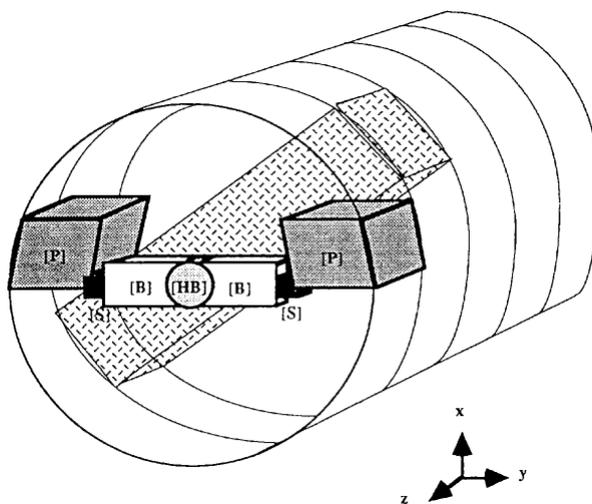


Figure 1.18 : Modèle géométrique d'ADN utilisé par Pinak et Ito [PINAK et ITO, 1993]. [P] représente le volume sensible du phosphate, [S] celui du sucre, [HB] celui de la liaison hydrogène et [B], celui la base de l'ADN.

Dans ce modèle, les paires de nucléotides sont empilées avec une succession de rotation de 36° , 10 paires de nucléotides formant un tour d'ADN. Des segments d'ADN de longueur variable allant de 11 à 101 paires de bases sont placés de manière aléatoire dans un volume sphérique donné. Pinak et Ito ont ensuite utilisé le code de structure de trace ETRACK afin de simuler les dépôts d'énergie survenant dans la molécule d'ADN par des électrons mono-énergétiques de 250 eV à 20 keV. Il s'est avéré que le volume ayant reçu le plus de dépôts d'énergie était celui du phosphate (probabilité de 52% d'être touché) tandis que celui du sucre était le moins touché (1%).

Dans la continuité, les modèles deviennent de plus en plus complexes comme nous pouvons le voir par exemple sur la figure 1.19 avec le modèle proposé par Michalik et Begusova en 1994 [MICHALIK et BEGUSOVA, 1994]. Ce modèle donne une description géométrique détaillée d'un nucléosome. Il est constitué d'une protéine histone représenté par un cylindre de 3,26 nm de rayon et de 5,7 nm de hauteur autour duquel, s'enroule l'ADN représenté par un tube de 2,4 nm de diamètre pour un total de 166 paires de bases. La hauteur d'un tour complet de l'ADN (pitch) dans ce modèle est égale à 2,7 nm. Le modèle de Michalik et Begusova a notamment été implémenté dans le code TRION.

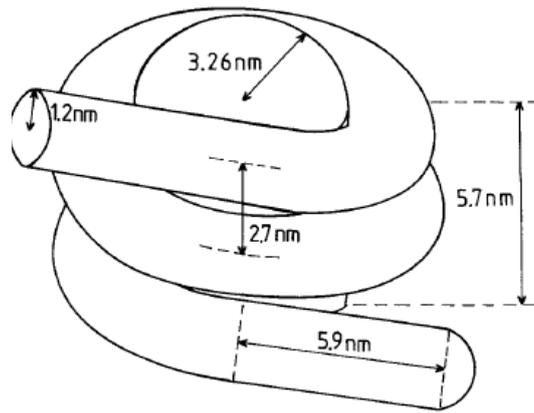


Figure 1.19 : Modèle de nucléosome développé par Michalik et Begusova [MICHALIK et BEGUSOVA, 1994].

Durant la même année, Pomplun et Terrissol [POMPLUN et TERRISSOL, 1994] développent également leur modèle de nucléosome (diamètre de 11 nm et pitch de 2,7 nm) constitué de 146 paires de bases et plus de 9000 atomes entourant les histones (figure 1.20).

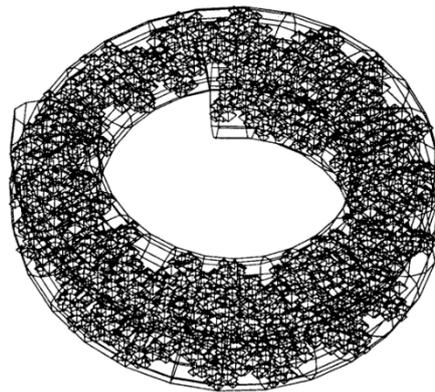


Figure 1.20 : Modèle de nucléosome par Pomplun et Terrissol [POMPLUN et TERRISSOL, 1994].

En 1996, Nikjoo et al. [NIKJOO et al., 1996] utilisent le code CPA100 [TERRISSOL et BEAUDRE, 1990] pour générer les traces des électrons ainsi que des radicaux libres issus du spectre des électrons Auger de Charlton et al. pour ensuite, superposer ces traces dans deux modèles d'ADN: le modèle implémenté par Charlton et al. et un modèle atomistique comprenant également la couche d'hydratation de l'ADN [UMRANIA et al. 1995].

Durant la même année, Holley et Chatterjee [HOLLEY et CHATTERJEE, 1996] implémentent un modèle de chromatine représentée par une fibre solénoïdale de 30 nm de diamètre comme illustré sur la figure 1.21. Cette fibre est composée de 20 tours de nucléosomes avec 6 nucléosomes par tour placés de manière hélicoïdale, chaque tour ayant une longueur de 11 nm.

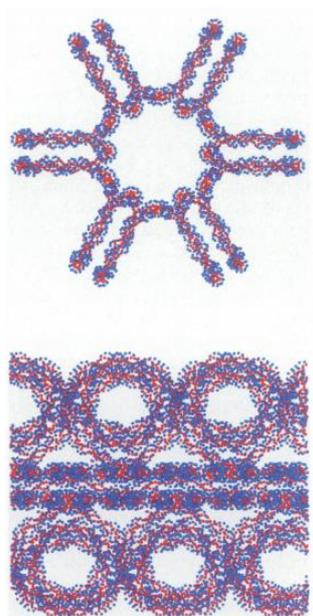


Figure 1.21 : La fibre de chromatine de 30 nm de diamètre implémentée par Holley et Chatterjee [HOLLEY et CHATTERJEE, 1996].

C'est à partir de la fin des années 1990 que les modèles géométriques d'ADN deviennent de plus en plus complexes et précis. En effet, Friedland et al. [FRIEDLAND et al., 1998] développent en 1998, un modèle incluant cinq niveaux de l'organisation structurale de l'ADN dans sa conformation ADN-B :

- La paire de nucléotide : les coordonnées des atomes de la molécule d'ADN sont extraites des travaux de Chandrasekaran et Arnott [CHANDRASEKARAN et ARNOTT, 1989] et les rayons de van der Waals de la publication de Saenger [SAENGER, 1984].
- La double hélice d'ADN : chaque paire de nucléotide est empilée par rotation hélicoïdale successive de 36° avec un déplacement sur l'axe des Z de 0,3375 nm afin de former la double hélice d'ADN.
- Le nucléosome : le modèle du nucléosome est basé sur celui de Pomplun et Terrissol. L'histone est alors modélisée par un cylindre de 6,4 nm de diamètre et 6 nm de hauteur. L'ADN s'enroule autour de l'histone pour un total de 146 paires de bases avec un pitch de 2,7 nm. La couche d'hydratation est prise en compte en doublant le rayon de van der Waals des atomes de l'ADN.
- La fibre de chromatine : les nucléosomes sont ensuite assemblés pour former la fibre de chromatine sous différentes configurations comme le modèle « zigzag » présenté sur la figure 1.22, le modèle « solénoïde », le modèle « crossed-linker » ou bien le modèle « stochastique ». Ces trois derniers modèles sont représentés sur la figure 1.23.

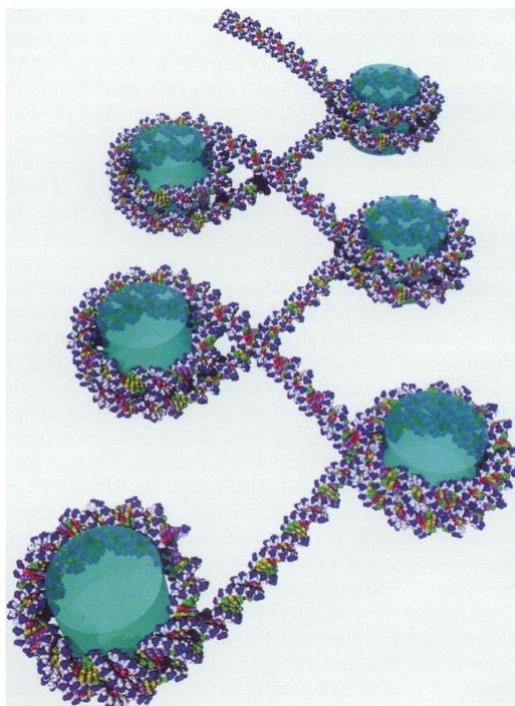


Figure 1.22 : Fibre de chromatine en configuration « zigzag » développée par Friedland et al. [FRIEDLAND et al., 1998].



Figure 1.23 : De gauche à droite : fibre de chromatine en configuration « solénoïde », « crossed-linker » et « stochastique » dans PARTRAC [FRIEDLAND et al., 1998].

- La boucle de chromatine : la fibre de chromatine est ensuite partiellement modifiée afin d'introduire certaines « courbures » comme illustré à la figure 1.24.



Figure 1.24 : Modélisation de la boucle de chromatine par Friedland et al. [FRIEDLAND et al., 1998].

Friedland et al. utilisent alors ce modèle en le superposant avec les traces des particules générées par le code PARTRAC afin de calculer les dommages radio-induits à l'ADN comme les cassures de brin directs et indirects, les cassures double brins et les fragments d'ADN générés par les cassures.

Cinq ans plus tard, Friedland et al. [FRIEDLAND et al., 2003] génèrent un modèle d'un noyau de fibroblaste humain comprenant 6 Giga paires de bases (Gbp). La fibre de chromatine est répartie dans des cubes de 50 nm de côté comprenant chacun, 30 nucléosomes organisés selon la structure « stochastique ». La forme du noyau de fibroblaste est modélisée selon une géométrie cylindrique, divisée en 46 territoires chromosomiques, chaque territoire étant proportionnel à la taille du chromosome correspondant. Les cubes de 50 nm contenant la fibre de chromatine sont assemblés pour former des structures en losange correspondant à des boucles de chromatine de 72 kbp. Ensuite, sept boucles de chromatine sont associées afin de former une structure de type « rosace » comme représenté à la figure 1.25 et contenant au total 0,5 Mbp. Chaque territoire chromosomique est ensuite rempli par un nombre défini de ces structures de 0,5 Mbp, ce nombre dépendant de la taille du chromosome.

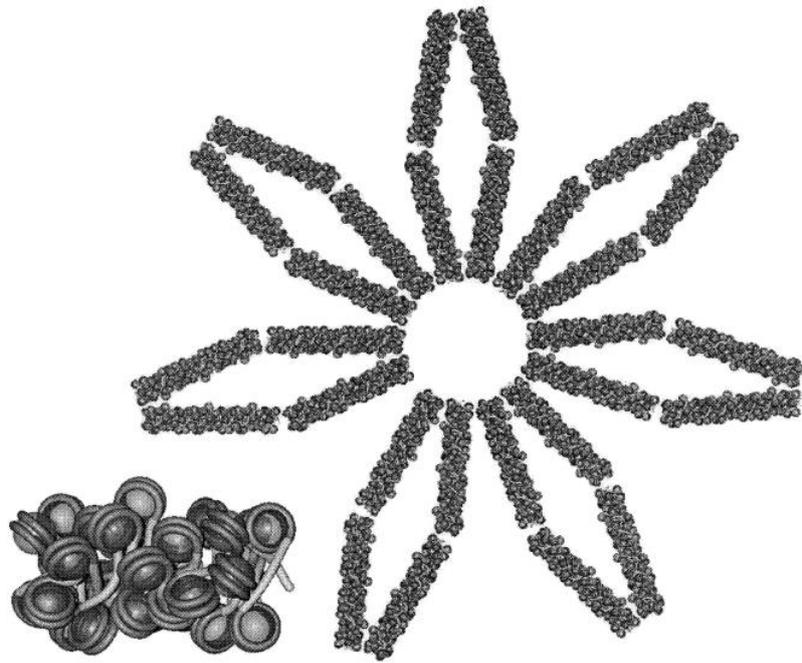


Figure 1.25 : Elément de base de la fibre de chromatine composé de 30 nucléosomes et arrangement en « rosette » de ces éléments de bases formant une structure de 0,5 Mbp [FRIEDLAND et al., 2003].

Kreth et al. [KRETH et al., 2004] développent en 2004 une nouvelle approche pour générer des noyaux cellulaires en phase G0/G1 du cycle cellulaire et en particulier, celui d'un lymphocyte humain. Pour cela, ils se sont basés sur l'utilisation du modèle SCD (Spherical Chromatin Domain) qui consiste à diviser chaque chromosome en une chaîne linéaire de plusieurs domaines sphériques de 500 nm de diamètre et contenant chacun 1 Mbp. Le nombre de domaines contenus dans chaque chromosome est alors directement proportionnel à la taille du chromosome. Le contenu en ADN de chaque chromosome est fourni par le « National Library of Medicine Data » (<https://www.nlm.nih.gov/>). Les différents domaines d'un chromosome donné sont reliés entre eux par des potentiels entropiques comme illustré à la figure 1.26.

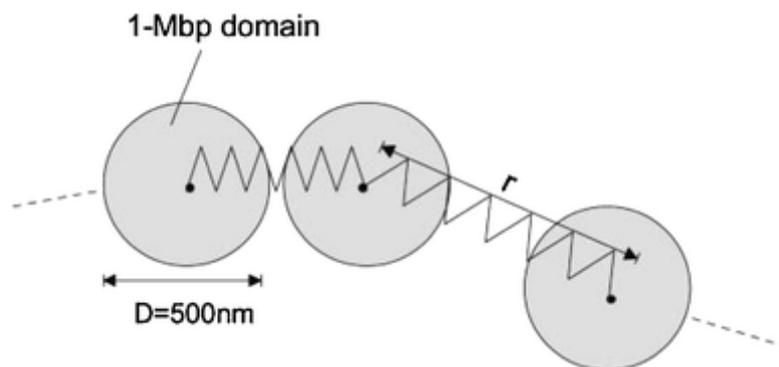


Figure 1.26 : Chaque chromosome est représenté par une chaîne linéaire de domaines sphériques contenant chacun 1 Mbp et liés entre eux par des potentiels entropiques [KRETH et al., 2004].

A ce stade, les chromosomes sont sous forme condensée comme montré par la figure 1.27. Afin de modéliser le génome humain en phase G0/G1 du cycle cellulaire, c'est-à-dire lorsque les chromosomes occupent de façon homogène tout le volume nucléaire, une étape dite de relaxation est effectuée. Elle consiste en l'application de la méthode Monte-Carlo afin d'atteindre un équilibre thermodynamique de tous les territoires chromosomiques. La figure 1.28 montre la totalité des chromosomes du noyau de lymphocyte après relaxation.



Figure 1.27 : Disposition des chromosomes sous forme condensée au sein du modèle du noyau de lymphocyte [KRETH et al., 2004].

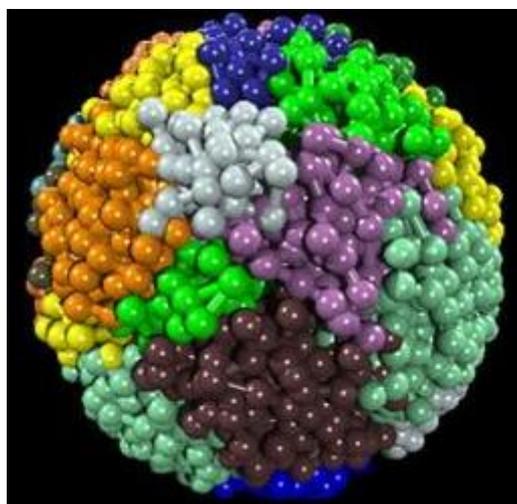


Figure 1.28 : Modèle du noyau de lymphocyte et son contenu génomique après relaxation [KRETH et al., 2004].

L'approche développée par Kreth et al. a ensuite été appliquée par Friedland et al. [FRIEDLAND et al., 2008]. Dans cette nouvelle version du modèle d'ADN, cinq types d'élément cubique de 50 nm sont introduits et contiennent la fibre de chromatine : un cube allant tout droit et quatre cubes tournés à 90° par rapport au cube droit (figure 1.29). Ces cinq types de cube permettent donc de remplir efficacement un espace en trois dimensions (3D) en conservant la continuité de la fibre de

chromatine. Globalement, la fibre de chromatine contenue dans ces cubes est similaire à la version précédente mise à part le fait qu'il y ait une augmentation du nombre de paires de bases contenu à l'intérieur de ces cubes. Ces cinq types de cube servent ensuite à remplir les différents domaines chromosomiques. Grâce à ces nouveautés, Friedland et al. ont pu développer leur propre modèle de noyau de lymphocyte correspondant à une sphère de diamètre 10 μm comme représenté dans la figure 1.30, mais ont pu également implémenter une nouvelle version de leur noyau de fibroblaste qui, cette fois-ci, est représenté par une ellipse dont les axes sont de 20 μm x 10 μm x 5 μm (figure 1.31).

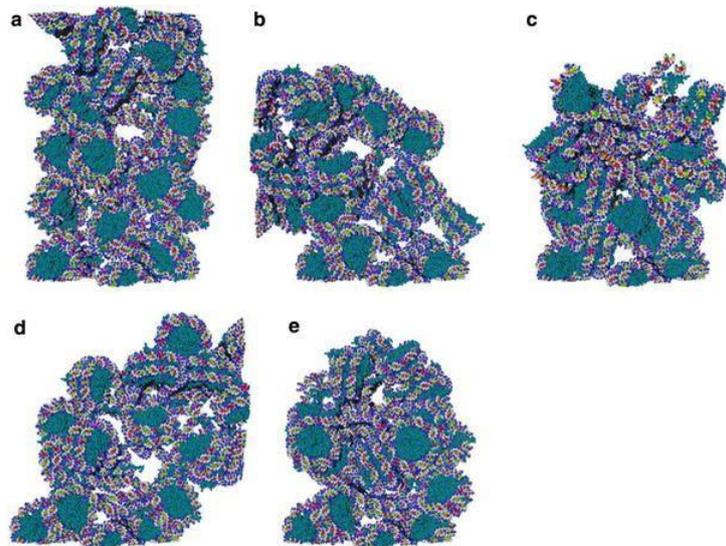


Figure 1.29 : Les cinq types de cubes contenant la fibre de chromatine dans PARTRAC [FRIEDLAND et al., 2008]. Cube droit (a), cube avec une rotation de 90° par rapport au cube droit (b,c,d,e).

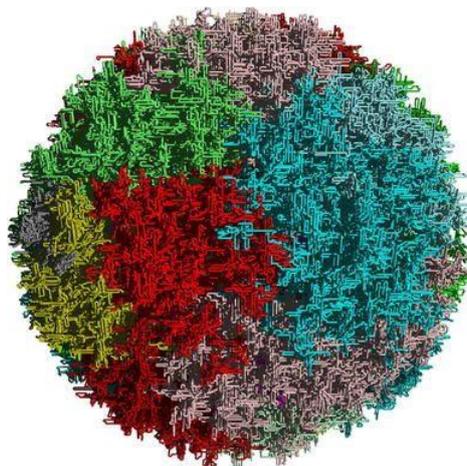


Figure 1.30 : Modèle du noyau de lymphocyte humain dans PARTRAC [FRIEDLAND et al., 2008].

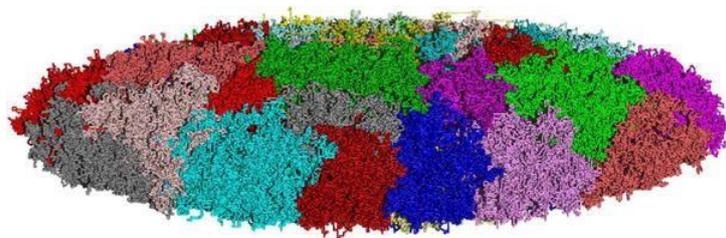


Figure 1.31 : Modèle du noyau de fibroblaste humain dans PARTRAC [FRIEDLAND et al., 2008].

En 2012, Nikjoo et Girard [NIKJOO et GIRARD, 2012] modélisent le génome humain (6 Gbp) contenu dans un noyau de lymphocyte comme nous pouvons le voir dans la figure 1.32. Ce noyau est représenté par une sphère de 10 μm de diamètre. Une forme canonique de l'ADN-B a été utilisée pour modéliser le nucléosome ainsi que la fibre de chromatine de 30 nm de diamètre en configuration solénoïde. A partir de la fibre, des boucles de chromatine sont générées dans les différents domaines chromosomiques. Les territoires chromosomiques reposent sur le modèle proposé par Cook [COOK, 2002], où chaque territoire chromosomique est composé de différents domaines chromosomiques. La taille et le contenu de chaque domaine proviennent des données de Morton [MORTON, 1991]. Chaque chromosome est modélisé par deux sphères adjacentes, une pour chaque bras du chromosome, soit un total de 96 sphères (domaines) pour le génome humain. Les sphères sont proportionnelles à la quantité d'ADN qu'elles contiennent. Dans ce modèle, chacun des domaines contient des « factories » servant de points d'ancrage pour la génération des boucles de chromatine.

Nikjoo et Girard ont ensuite effectué des simulations dans ce modèle de noyau cellulaire en utilisant le code PITS99 pour simuler les traces des protons et des particules alphas et le code KURBUC pour les électrons dans le but de calculer les dommages à l'ADN mais en ne considérant que les dommages provenant de l'étape physique (cassures directes) dans cette étude.

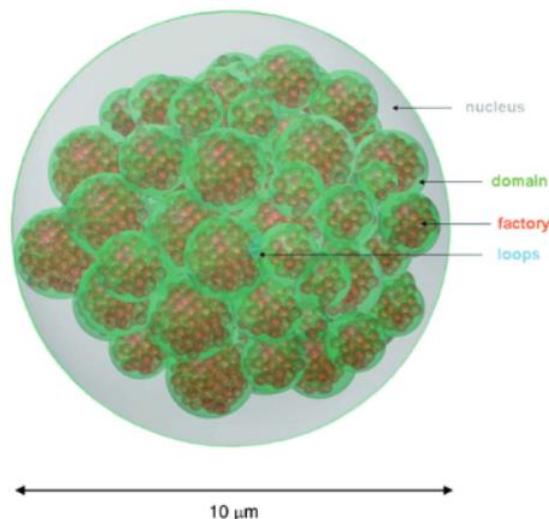


Figure 1.32 : Modèle d'un noyau de lymphocyte et son contenu génomique développé par Nikjoo et Girard [NIKJOO et GIRARD, 2011].

C'est en 2013 que Bernal et al. [BERNAL et al., 2013] combine des modèles géométriques comprenant une description précise de la position de chaque atome de l'ADN-B, en les superposant avec les traces des particules générées avec le code Geant4-DNA (figure 1.33). Dans ce modèle, cinq niveaux de représentation sont pris en compte : la paire de nucléotides, la double hélice d'ADN, le nucléosome, et la fibre de chromatine de 10 nm et de 30 nm de diamètre. Chaque nucléosome est constitué d'une histone enroulée par 154 paires de bases de l'ADN et comprend également une portion d'ADN « linker » de 46 bp pour relier les nucléosomes entre eux. Cependant, ces modèles n'ont pas été distribués à la collaboration Geant4.

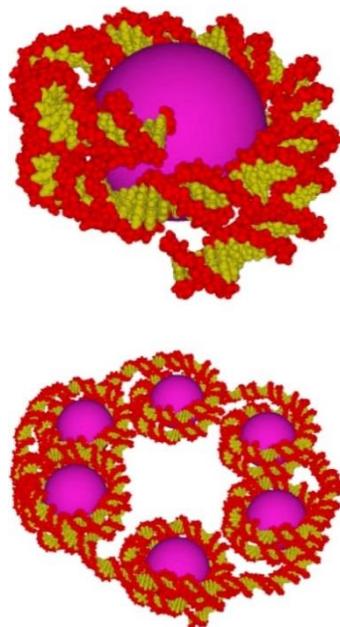


Figure 1.33 : Les modèles de nucléosome et de la fibre de chromatine de 30 nm de diamètre de Bernal et al. [BERNAL et al., 2013].

Parallèlement en 2013, Dos Santos et al. [DOS SANTOS et al., 2013] implémentent directement dans Geant4-DNA, d'autres modèles géométriques de l'ADN qui sont représentés dans la figure 1.34. Ces modèles sont inspirés des modèles développés par Friedland et al. [FRIEDLAND et al., 2003] et présentés précédemment. Ils présentent l'avantage d'être rendus publiques dans un exemple nommé « *WholeNuclearDNA* » dans le cadre de la collaboration Geant4 et sont disponibles en accès libre au sein de Geant4 (<https://geant4.web.cern.ch/>).

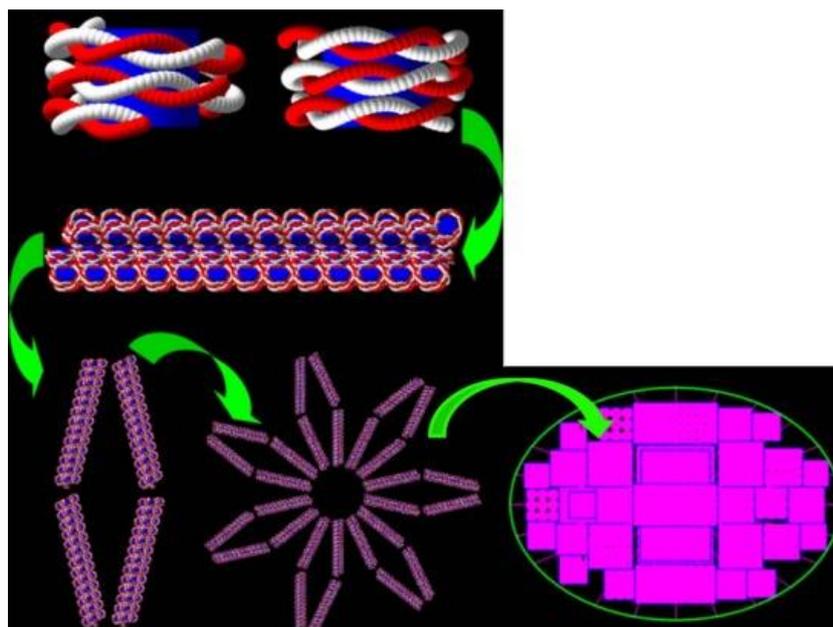


Figure 1.34 : Les cinq niveaux de l'organisation structurale de l'ADN-B implémentés dans Geant4-DNA par Dos Santos et al. [DOS SANTOS et al., 2013] : le nucléosome, la fibre de chromatine, les boucles de chromatine, la structure en rosace et les territoires chromosomiques au sein d'un noyau de fibroblaste humain.

Rappelons tout de même qu'en réalité, les noyaux cellulaires peuvent contenir différents niveaux de compaction de la chromatine à savoir, l'hétérochromatine et l'euchromatine. Parmi tous les modèles de noyaux cellulaires cités jusqu'à présent, aucune réelle distinction entre les différents types de compaction de la chromatine n'a été faite. En effet, Dos Santos et al. [DOS SANTOS et al., 2013] ont partiellement pris en compte cet aspect de compaction de la chromatine en utilisant exclusivement les structures en rosace pour modéliser les zones d'hétérochromatine et uniquement des nucléosomes pour représenter les zones d'euchromatine. Néanmoins, c'est également en 2013 que Friedland et al. [FRIEDLAND et al., 2013] proposent un nouveau modèle pour représenter l'euchromatine. De manière similaire au modèle de 2008, l'euchromatine est répartie dans cinq types de cube mais qui comportent beaucoup moins de paires de bases que ceux représentant l'hétérochromatine. La distance inter-nucléosome est alors plus grande dans les cubes d'euchromatine. C'est ce que l'on peut observer à la figure 1.35 où deux cubes contenant de l'hétérochromatine sont séparés par un cube contenant de l'euchromatine

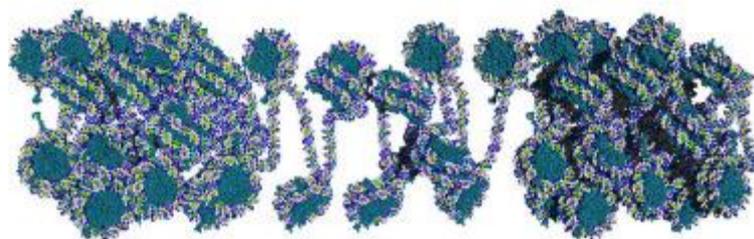


Figure 1.35 : Deux cubes contenant de l'hétérochromatine sont séparés par un cube contenant de l'euchromatine dans PARTRAC [FRIEDLAND et al., 2013]

En 2015, Delage et al. [DELAGE et al., 2015] incluent dans Geant4-DNA, un exemple permettant d'utiliser une représentation atomistique de macromolécules issue de fichiers PDB (*Protein Data Bank*) comme illustré sur la figure 1.36. Cette approche n'inclut pas de volumes physiques Geant4 et la simulation est effectuée dans un volume continu. Elle repose plutôt sur l'utilisation d'un algorithme optimisé pour les molécules d'ADN qui cherche l'atome d'ADN le plus proche d'une position donnée pouvant correspondre à un dépôt d'énergie ou à un radical libre. Lorsque l'atome d'ADN est trouvé, l'algorithme donne l'information sur le brin d'ADN auquel il appartient, l'identifiant du nucléotide ainsi que l'identifiant du groupe (base, phosphate ou sucre).

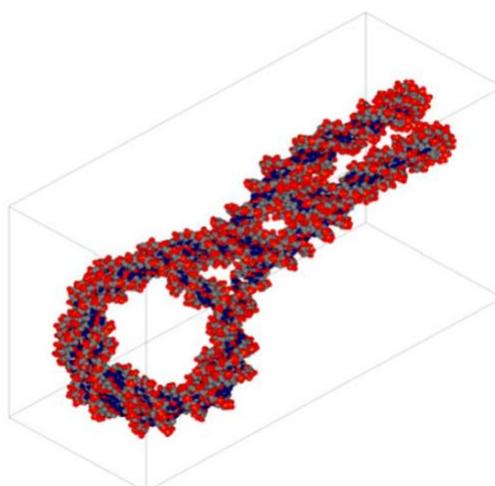


Figure 1.36 : Modèle d'un di-nucléosome généré à partir du fichier PDB 1ZBB [DELAGE et al., 2015].

Plus récemment, Meylan et al. [MEYLAN et al, 2016 ; MEYLAN, 2016] ont généré des modèles multi-échelless complexes de l'ADN dans différents noyaux cellulaires humains et pouvant être directement utilisés dans Geant4-DNA grâce au développement d'un nouvel outil nommé DnaFabric. L'approche utilisée par Kreth et al. ainsi que la méthode des cubes de 50 nm de longueur contenant la fibre de chromatine de Friedland et al. ont inspiré le développement de DnaFabric. Les différents modèles seront détaillés dans le chapitre suivant (Cf. Chapitre 2 - Section 2.1).

Notons également qu'il existe des modèles de noyaux cellulaires humains comprenant une organisation fractale de la distribution de la chromatine en G0/G1 comme représenté dans la figure 1.37 [SAKATA et al., 2019]. Ce modèle de noyau cellulaire est basé sur les travaux précédents de

Lampe et al. [LAMPE et al., 2018] et a été directement utilisé dans Geant4-DNA pour le calcul des dommages à l'ADN.

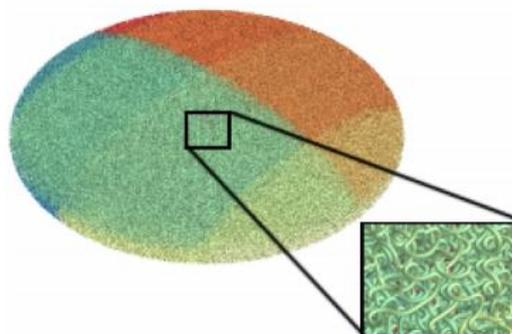


Figure 1.37 : Modèle d'un noyau cellulaire comprenant une organisation fractale de la distribution de la chromatine [SAKATA et al., 2019].

Autres modèles géométriques de l'ADN

Notons tout de même que nous nous sommes limités à différents modèles géométriques de l'ADN-B en particulier, qui est la forme la plus abondante de l'ADN [RICHMOND et DAVEY, 2003], ainsi qu'à des noyaux de cellules humaines. Cependant, il existe également d'autres modèles géométriques développés afin de représenter par exemple :

- D'autres configurations de l'ADN comme l'ADN-A et l'ADN-Z [BERNAL et al., 2015].
- L'ADN mitochondrial [FRIEDLAND et al., 2018 ; MCNAMARA et al., 2018].
- Des plasmides [TOMITA et al., 1998 ; MCNAMARA et al., 2018].
- Le génome de bactéries [LAMPE et al., 2018].

1.4 Objectifs du travail de thèse

Dans ce chapitre, nous avons pu mettre en évidence que les effets biologiques induits par les rayonnements ionisants dépendaient des caractères physiques du rayonnement (type de particule, énergie, dose absorbée...) mais également des différences biologiques de la cible comme par exemple, la phase du cycle cellulaire et le type cellulaire.

Afin d'écartier l'influence de la phase du cycle cellulaire sur la quantité d'ADN [GRUEL et al., 2016] mais également dans la sensibilité aux dommages radio-induits [PAWLIK et KEYOMARSI, 2004], nous nous sommes intéressés à des cellules synchronisées en phase G0/G1 du cycle cellulaire. En effet,

c'est une phase dite de quiescence durant laquelle, l'ADN occupe tout le volume nucléaire de façon homogène et sa quantité reste constante.

Pour étudier l'influence du type cellulaire sur le nombre de dommages radio-induits à l'ADN, différents modèles de noyaux cellulaires représentant différents types cellulaires ayant le même contenu en ADN et présentant des différences d'un point de vue morphologique (forme et volume), ont été utilisés dans ce travail de thèse.

Cependant, la plupart des géométries d'ADN utilisées dans les différents codes de simulation ne considèrent que la forme d'hétérochromatine. Or, il semblerait aussi que la structure de la chromatine ait une influence sur l'induction du nombre de dommages radio-induits à l'ADN et à leur réparation [FALK et al., 2010]. Cet aspect important doit donc être pris en compte lors de l'évaluation des dommages à l'ADN après irradiation. Partant de ce constat, cette thèse a pour principal objectif, d'étudier l'influence des deux niveaux de compaction de la chromatine sur les dommages biologiques. Pour cela, un nouveau modèle d'euchromatine a été implémenté permettant ainsi de générer des noyaux cellulaires comprenant une répartition des deux niveaux de compaction de la chromatine. La prise en compte de ce nouveau modèle dans la simulation permettra de caractériser et quantifier son influence sur le nombre et la complexité des dommages de l'ADN.

Jusqu'à présent, les particules employées dans nos simulations ne concernaient que les protons et les particules alphas. Néanmoins, la plupart des expériences en radiobiologie reposent sur l'utilisation de photons. Afin de pouvoir comparer nos données issues des simulations aux données expérimentales, il apparaît donc nécessaire de pouvoir simuler le cas d'une irradiation photon. Or, que ce soit à l'échelle d'une population cellulaire ou de l'ADN, la simulation de ce type d'irradiation pose des contraintes en termes de temps de calcul dû à la préservation de l'équilibre électronique. En effet, il est nécessaire de combiner, une échelle macroscopique pour simuler la mise en mouvement des électrons par les photons à une échelle nanométrique pour le calcul des transferts d'énergie à l'échelle cellulaire ou subcellulaire. De ce fait, une méthode a été élaborée dans ce travail de thèse afin d'optimiser la simulation de l'irradiation photon. Cela a permis notamment d'étudier l'influence de la qualité du rayonnement RX sur la nature des dommages radio-induits, leur complexité et leur répartition spatiale.

Enfin, cette thèse vise également à fournir des outils et méthodes permettant d'étendre la simulation afin de prédire des effets plus tardifs que les dommages à l'ADN tels que les processus de réparation de l'ADN ou la mort cellulaire.

Références

- Agostinelli, S., Allison, J., Amako, K., et al. (2003). GEANT4: A Simulation toolkit. *Nucl.Instrum.Meth.*, A506, 250-303. [https://doi.org/10.1016/S0168-9002\(03\)01368-8](https://doi.org/10.1016/S0168-9002(03)01368-8)
- Allison, J., Amako, K., Apostolakis, J., et al. (2006). Geant4 developments and applications. *IEEE Transactions on Nuclear Science*, 53(1), 270-278. <https://doi.org/10.1109/TNS.2006.869826>
- Allison, J., Amako, K., Apostolakis, J., et al. (2016). Recent developments in GEANT4. *Nuclear Instruments and Methods in Physics Research A*, 835, 186-225. <https://doi.org/10.1016/j.nima.2016.06.125>
- Bäckström, G., Galassi, M. E., Tilly, N., et al. (2013). Track structure of protons and other light ions in liquid water: Applications of the LlonTrack code at the nanometer scale. *Medical Physics*, 40(6Part1), 064101. <https://doi.org/10.1118/1.4803464>
- Bernal, M. A., Bordage, M. C., Brown, J. M. C., et al. (2015). Track structure modeling in liquid water: A review of the Geant4-DNA very low energy extension of the Geant4 Monte Carlo simulation toolkit. *Physica Medica*, 31(8), 861-874. <https://doi.org/10.1016/j.ejmp.2015.10.087>
- Bernal, M. A., Sikansi, D., Cavalcante, F., et al. (2013). An atomistic geometrical model of the B-DNA configuration for DNA-radiation interaction simulations. *Computer Physics Communications*, 184, 2840-2847. <https://doi.org/10.1016/j.cpc.2013.07.015>
- Bigildeev, E. A., et Michalik, V. (1996). Charged particle tracks in water of different phases. Monte Carlo simulation of electron tracks. *Radiation Physics and Chemistry*, 47(2), 197-207. [https://doi.org/10.1016/0969-806X\(95\)00002-F](https://doi.org/10.1016/0969-806X(95)00002-F)
- Blanco, F., Muñoz, A., Almeida, D., et al. (2013). Modelling low energy electron and positron tracks in biologically relevant media. *The European Physical Journal D*, 67(9), 199. <https://doi.org/10.1140/epjd/e2013-40276-1>
- Bortot, D., Mazzucconi, D., Agosteo, S., et al. (2019). Microdosimetry on nanometric scale with a new low-pressure avalanche-confinement TEPC. *Journal of Physics: Conference Series*, 1154, 012004. <https://doi.org/10.1088/1742-6596/1154/1/012004>
- Brenner, D. J., et Zaider, M. (1984). A computationally convenient parameterisation of experimental angular distributions of low energy electrons elastically scattered off water vapour. *Physics in Medicine and Biology*, 29(4), 443-447. <https://doi.org/10.1088/0031-9155/29/4/015>
- Carter, R. J., Nickson, C. M., Thompson, J. M., et al. (2018). Complex DNA Damage Induced by High Linear Energy Transfer Alpha-Particles and Protons Triggers a Specific Cellular DNA Damage Response. *International Journal of Radiation Oncology*Biophysics*, 100(3), 776-784. <https://doi.org/10.1016/j.ijrobp.2017.11.012>
- Champion, C. (2003). Theoretical cross sections for electron collisions in water: structure of electron tracks. *Physics in Medicine and Biology*, 48(14), 2147-2168. <https://doi.org/10.1088/0031-9155/48/14/308>
- Champion, C., Incerti, S., Aouchiche, H., et al. (2009). A free-parameter theoretical model for describing the electron elastic scattering in water in the Geant4 toolkit. *Radiation Physics and Chemistry*, 78(9), 745-750. <https://doi.org/10.1016/j.radphyschem.2009.03.079>

- Champion, C., L'Hoir, A., Politis, M. F., et al. (2005). A Monte Carlo Code for the Simulation of Heavy-Ion Tracks in Water. *Radiation Research*, 163(2), 222-231. <https://doi.org/10.1667/RR3295>
- Champion, C., Loirec, C. L., et Stosic, B. (2012). EPOTRAN: A full-differential Monte Carlo code for electron and positron transport in liquid and gaseous water. *International Journal of Radiation Biology*, 88(1-2), 54-61. <https://doi.org/10.3109/09553002.2011.641451>
- Chandrasekaran, R., et Arnott, S. (1989). The structures of DNA and RNA helices in oriented fibers. W. Saenger (Ed.), *Landolt-Börnstein Numerical Data and Functional Relationships in Science and Technology, Group VIII/1b, Nucleic Acids*, Springer-Verlag, Berlin, 31-170.
- Charlton, D. E., Nikjoo, H., et Humm, J. L. (1989). Calculation of initial yields of single- and double-strand breaks in cell nuclei from electrons, protons and alpha particles. *International Journal of Radiation Biology*, 56(1), 1-19.
- Chatterjee, A., et Holley, W. R. (1993). Computer Simulation of Initial Events in the Biochemical Mechanisms of DNA Damage. In J. T. Lett et W. K. Sinclair (Éd.), *Advances in Radiation Biology* (Vol. 17, p. 181-226). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-035417-7.50007-6>
- Clifford, P., Green, N. J. B., Oldfield, M. J., et al. (1986). Stochastic models of multi-species kinetics in radiation-induced spurs. *Journal of the Chemical Society, Faraday Transactions 1: Physical Chemistry in Condensed Phases*, 82(9), 2673-2689. <https://doi.org/10.1039/F19868202673>
- Clifford, P., Green, N. J. B., et Pilling, M. J. (1984). Analysis of the Debye-Smoluchowski equation. Approximations for high-permittivity solvents. *The Journal of Physical Chemistry*, 88(18), 4171-4176. <https://doi.org/10.1021/j150662a064>
- Cobut, V. (1998). Monte Carlo simulation of fast electron and proton tracks in liquid water -- I. physical and physicochemical aspects. *Radiation Physics and Chemistry*, 51, 229-243. [https://doi.org/10.1016/S0969-806X\(97\)00096-0](https://doi.org/10.1016/S0969-806X(97)00096-0)
- Cobut, V., Cirioni, L., et Patau, J. P. (2004). Accurate transport simulation of electron tracks in the energy range 1 keV-4 MeV. *Nuclear Instruments and Methods in Physics Research Section B: Beam Interactions with Materials and Atoms*, 215(1), 57-68. [https://doi.org/10.1016/S0168-583X\(03\)01782-8](https://doi.org/10.1016/S0168-583X(03)01782-8)
- Conte, V., Colautti, P., Grosswendt, B., et al. (2012). Track structure of light ions: experiments and simulations. *New Journal of Physics*, 14(9), 093010. <https://doi.org/10.1088/1367-2630/14/9/093010>
- Conte, V., Selva, A., Colautti, P., et al. (2017). Track structure characterization and its link to radiobiology. *Radiation Measurements*, 106, 506-511. <https://doi.org/10.1016/j.radmeas.2017.06.010>
- Cook, P. R. (2002). Predicting three-dimensional genome structure from transcriptional activity. *Nature Genetics*, 32(3), 347-352. <https://doi.org/10.1038/ng1102-347>
- Delage, E., Pham, Q. T., Karamitros, M., et al. (2015). PDB4DNA: Implementation of DNA geometry from the Protein Data Bank (PDB) description for Geant4-DNA Monte-Carlo simulations. *Computer Physics Communications*, 192, 282-288. <https://doi.org/10.1016/j.cpc.2015.02.026>

- Dikomey, E., Dahm-Daphi, J., Brammer, I., et al. (1998). Correlation between cellular radiosensitivity and non-repaired double-strand breaks studied in nine mammalian cell lines. *International Journal of Radiation Biology*, 73(3), 269-278.
- Dingfelder, M., Hantke, D., Inokuti, M., et al. (1998). Electron inelastic-scattering cross sections in liquid water. *Radiation Physics and Chemistry*, 53(1), 1-18. [https://doi.org/10.1016/S0969-806X\(97\)00317-4](https://doi.org/10.1016/S0969-806X(97)00317-4)
- Dingfelder, M., Inokuti, M., et Paretzke, H. G. (2000). Inelastic-collision cross sections of liquid water for interactions of energetic protons. *Radiation Physics and Chemistry*, 59(3), 255-275. [https://doi.org/10.1016/S0969-806X\(00\)00263-2](https://doi.org/10.1016/S0969-806X(00)00263-2)
- Dos Santos, M. (2013). *Modélisation de la topologie des dépôts d'énergie créés par un rayonnement ionisant à l'échelle nanométrique dans les noyaux cellulaires et relation avec les événements précoces radio-induits* (Thèse). Université Bordeaux.
- Emfietzoglou, D. (2003). Inelastic cross-sections for electron transport in liquid water: a comparison of dielectric models. *Radiation Physics and Chemistry*, 66(6), 373-385. [https://doi.org/10.1016/S0969-806X\(02\)00504-2](https://doi.org/10.1016/S0969-806X(02)00504-2)
- Emfietzoglou, D., Karava, K., Papamichael, G., et al. (2003). Monte Carlo simulation of the energy loss of low-energy electrons in liquid water. *Physics in Medicine and Biology*, 48(15), 2355-2371. <https://doi.org/10.1088/0031-9155/48/15/308>
- Falk, M., Lukasova, E., et Kozubek, S. (2010). Higher-order chromatin structure in DSB induction, repair and misrepair. *Mutation Research*, 704(1-3), 88-100. <https://doi.org/10.1016/j.mrrev.2010.01.013>
- Fernández-Varea, J. M., Liljequist, D., Csillag, S., et al. (1996). Monte Carlo simulation of 0.1-100 keV electron and positron transport in solids using optical data and partial wave methods. *Nuclear Instruments and Methods in Physics Research Section B: Beam Interactions with Materials and Atoms*, 108(1), 35-50. [https://doi.org/10.1016/0168-583X\(95\)01055-6](https://doi.org/10.1016/0168-583X(95)01055-6)
- Friedland, W., Jacob, P., Bernhardt, P., et al. (2003). Simulation of DNA Damage after Proton Irradiation. *Radiation Research*, 159(3), 401-410. [https://doi.org/10.1667/0033-7587\(2003\)159\[0401:SODDAP\]2.0.CO;2](https://doi.org/10.1667/0033-7587(2003)159[0401:SODDAP]2.0.CO;2)
- Friedland, W., Jacob, P., Paretzke, H. G., et al. (1998). Monte Carlo simulation of the production of short DNA fragments by low-linear energy transfer radiation using higher-order DNA models. *Radiation Research*, 150(2), 170-182.
- Friedland, W., et Kundrát, P. (2013). Track structure based modelling of chromosome aberrations after photon and alpha-particle irradiation. *Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis*, 756(1), 213-223. <https://doi.org/10.1016/j.mrgentox.2013.06.013>
- Friedland, W., Paretzke, H. G., Ballarini, F., et al. (2008). First steps towards systems radiation biology studies concerned with DNA and chromosome structure within living cells. *Radiation and Environmental Biophysics*, 47(1), 49-61. <https://doi.org/10.1007/s00411-007-0152-x>
- Friedland, W., Schmitt, E., Kundrát, P., et al. (2017). Comprehensive track-structure based evaluation of DNA damage by light ions from radiotherapy-relevant energies down to stopping. *Scientific Reports*, 7, 45161. <https://doi.org/10.1038/srep45161>

- Friedland, W., Schmitt, E., Kundrát, P., et al. (2019). Track-structure simulations of energy deposition patterns to mitochondria and damage to their DNA. *International Journal of Radiation Biology*, 95(1), 3-11. <https://doi.org/10.1080/09553002.2018.1450532>
- Frongillo, Y. (1998). Monte Carlo simulation of fast electron and proton tracks in liquid water -- II. nonhomogeneous chemistry. *Radiation Physics and Chemistry*, 51, 245-254. [https://doi.org/10.1016/S0969-806X\(97\)00097-2](https://doi.org/10.1016/S0969-806X(97)00097-2)
- Garty, G., Shchemelinin, S., Breskin, A., et al. (2002). The performance of a novel ion-counting nanodosimeter. *Nuclear Instruments and Methods in Physics Research Section A: Accelerators, Spectrometers, Detectors and Associated Equipment*, 492(1), 212-235. [https://doi.org/10.1016/S0168-9002\(02\)01278-0](https://doi.org/10.1016/S0168-9002(02)01278-0)
- Gervais, B., Beuve, M., Olivera, G. H., et al. (2005). Production of HO₂ and O₂ by multiple ionization in water radiolysis by swift carbon ions. *Chemical Physics Letters*, 410(4), 330-334. <https://doi.org/10.1016/j.cplett.2005.05.057>
- Green, N. J. B., Pilling, M. J. (Physical C. L., Pimblott, S. M. (Univ of N. D., et al. (1990). Stochastic modeling of fast kinetics in a radiation track. *Journal of Physical Chemistry; (USA)*, 94:1. <https://doi.org/10.1021/j100364a041>
- Grewal, S. I. S., et Jia, S. (2007). Heterochromatin revisited. *Nature Reviews Genetics*, 8(1), 35-46. <https://doi.org/10.1038/nrg2008>
- Gross, D. S. (2015). Heterochromatin: Dark Matter or Variation on a Theme? *Current Biology*, 25(11), R462-R465. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2015.04.003>
- Grosswendt, B., et Pszona, S. (2002). The track structure of α -particles from the point of view of ionization-cluster formation in nanometric volumes of nitrogen. *Radiation and Environmental Biophysics*, 41(2), 91-102. <https://doi.org/10.1007/s00411-002-0144-9>
- Gruel, G., Villagrasa, C., Voisin, P., et al. (2016). Cell to Cell Variability of Radiation-Induced Foci: Relation between Observed Damage and Energy Deposition. *PLOS ONE*, 11(1), e0145786. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0145786>
- Hart, E. J., et Boag, J. W. (1962). Absorption Spectrum of the Hydrated Electron in Water and in Aqueous Solutions. *Journal of the American Chemical Society*, 84(21), 4090-4095. <https://doi.org/10.1021/ja00880a025>
- Hayashi, H., Watanabe, N., Udagawa, Y., et al. (1998). Optical spectra of liquid water in vacuum uv region by means of inelastic x-ray scattering spectroscopy. *The Journal of Chemical Physics*, 108(3), 823-825. <https://doi.org/10.1063/1.475446>
- Heller, J. M., Hamm, R. N., Birkhoff, R. D., et al. (1974). Collective oscillation in liquid water. *Journal of Chemical Physics*, 60, 3483-3486. <https://doi.org/10.1063/1.1681563>
- Hill, M. A., et Smith, F. A. (1994). Calculation of initial and primary yields in the radiolysis of water. *Radiation Physics and Chemistry*, 43(3), 265-280. [https://doi.org/10.1016/0969-806X\(94\)90190-2](https://doi.org/10.1016/0969-806X(94)90190-2)
- Holley, W. R., et Chatterjee, A. (1996). Clusters of DNA induced by ionizing radiation: formation of short DNA fragments. I. Theoretical modeling. *Radiation Research*, 145(2), 188-199.
- ICRU. (1983). Report 36. *Journal of the International Commission on Radiation Units and Measurements*, os19(1), NP-NP. <https://doi.org/10.1093/jicru/os19.1.Report36>

- ICRU. (2012). Report 85. *Radiation Protection Dosimetry*, 150(4), 550-552.
<https://doi.org/10.1093/rpd/ncs077>
- Incerti, S., Baldacchino, G., Bernal, M., et al. (2010a). The geant4-dna project. *International Journal of Modeling, Simulation, and Scientific Computing*, 01(02), 157-178.
<https://doi.org/10.1142/S1793962310000122>
- Incerti, S., Ivanchenko, A., Karamitros, M., et al. (2010b). Comparison of GEANT4 very low energy cross section models with experimental data in water. *Medical Physics*, 37(9), 4692-4708.
<https://doi.org/10.1118/1.3476457>
- Incerti, S., Kyriakou, I., Bernal, M. A., et al. (2018). Geant4-DNA example applications for track structure simulations in liquid water: A report from the Geant4-DNA Project. *Medical Physics*, 45(8), e722-e739. <https://doi.org/10.1002/mp.13048>
- Ito, A. (1987). Calculation of double strand break probability of DNA for low LET radiations based on track structure analysis. *Nuclear and Atomic Data for Radiotherapy and Related Radiobiology*.
- Jorgensen, T. J. (2009). Enhancing radiosensitivity: targeting the DNA repair pathways. *Cancer Biology & Therapy*, 8(8), 665-670.
- Kaplan, I. G., Miterev, A. M., et Sukhonosov, V. Y. (1990). Simulation of the primary stage of liquid water radiolysis. *International Journal of Radiation Applications and Instrumentation. Part C. Radiation Physics and Chemistry*, 36(3), 493-498. [https://doi.org/10.1016/1359-0197\(90\)90039-K](https://doi.org/10.1016/1359-0197(90)90039-K)
- Karamitros, M., Luan, S., Bernal, M. A., et al. (2014). Diffusion-controlled reactions modeling in Geant4-DNA. *Journal of Computational Physics*, 274, 841-882.
<https://doi.org/10.1016/j.jcp.2014.06.011>
- Karamitros, M. (2012). *Extension de l'outil Monte Carlo généraliste Geant4 pour la simulation de la radiolyse de l'eau dans le cadre du projet Geant4-DNA* (Thèse). Université Bordeaux.
- Karamitros, M., Incerti, S., et Mantero, A. (2011). Modeling radiation chemistry in the Geant4 toolkit. *Progress in Nuclear Science and Technology*, 2, 503-508.
<https://doi.org/10.15669/pnst.2.503>
- Kawrakow, I. (2000). Accurate condensed history Monte Carlo simulation of electron transport. I. EGSnrc, the new EGS4 version. *Medical Physics*, 27(3), 485-498.
<https://doi.org/10.1118/1.598917>
- Krämer, M. (2009). Swift ions in radiotherapy - Treatment planning with TRiP98. *Nuclear Instruments and Methods in Physics Research Section B: Beam Interactions with Materials and Atoms*, 267(6), 989-992. <https://doi.org/10.1016/j.nimb.2009.02.015>
- Krämer, M., et Kraft, G. (1994). Calculations of heavy-ion track structure. *Radiation and Environmental Biophysics*, 33(2), 91-109. <https://doi.org/10.1007/BF01219334>
- Kreipl, M. S., Friedland, W., et Paretzke, H. G. (2009). Time- and space-resolved Monte Carlo study of water radiolysis for photon, electron and ion irradiation. *Radiation and Environmental Biophysics*, 48(1), 11. <https://doi.org/10.1007/s00411-008-0194-8>
- Kreth, G., Finsterle, J., von Hase, J., et al. (2004). Radial arrangement of chromosome territories in human cell nuclei: a computer model approach based on gene density indicates a probabilistic global positioning code. *Biophysical Journal*, 86(5), 2803-2812.
[https://doi.org/10.1016/S0006-3495\(04\)74333-7](https://doi.org/10.1016/S0006-3495(04)74333-7)

- Kuo, L. J., et Yang, L.-X. (2008). Gamma-H2AX - a novel biomarker for DNA double-strand breaks. *In Vivo (Athens, Greece)*, 22(3), 305-309.
- Lampe, N., Karamitros, M., Breton, V., et al. (2018). Mechanistic DNA damage simulations in Geant4-DNA Part 2: Electron and proton damage in a bacterial cell. *Physica Medica: PM: An International Journal Devoted to the Applications of Physics to Medicine and Biology: Official Journal of the Italian Association of Biomedical Physics (AIFB)*, 48, 146-155. <https://doi.org/10.1016/j.ejmp.2017.12.008>
- Lappa, A. V., Bigildeev, E. A., Burmistrov, D. S., et al. (1993). "Trion" code for radiation action calculations and its application in microdosimetry and radiobiology. *Radiation and Environmental Biophysics*, 32(1), 1-19. <https://doi.org/10.1007/BF01213126>
- Li, J., Li, C., Qiu, R., et al. (2015). DNA strand breaks induced by electrons simulated with Nanodosimetry Monte Carlo Simulation Code: NASIC. *Radiation Protection Dosimetry*, 166(1-4), 38-43. <https://doi.org/10.1093/rpd/ncv171>
- Lomax, M. E., Folkes, L. K., et O'Neill, P. (2013). Biological consequences of radiation-induced DNA damage: relevance to radiotherapy. *Clinical Oncology (Royal College of Radiologists (Great Britain))*, 25(10), 578-585. <https://doi.org/10.1016/j.clon.2013.06.007>
- McNamara, A. L., Ramos-Méndez, J., Perl, J., et al. (2018). Geometrical structures for radiation biology research as implemented in the TOPAS-nBio toolkit. *Physics in Medicine and Biology*, 63(17), 175018. <https://doi.org/10.1088/1361-6560/aad8eb>
- Melton, C. E. (1972). Cross Sections and Interpretation of Dissociative Attachment Reactions Producing OH-, O-, and H- in H2O. *Journal of Chemical Physics*, 57, 4218-4225. <https://doi.org/10.1063/1.1678051>
- Meylan, S. (2016). *Développement d'un outil de simulation multi-échelles adapté au calcul des dommages radio-induits précoces dans des cellules exposées à des irradiations d'ions légers (proton et alpha)* (Thèse). Université Bordeaux.
- Michalik, V., et Běgusová, M. (1994). Target Model of Nucleosome Particle for Track Structure Calculations and DNA Damage Modelling. *International Journal of Radiation Biology*, 66(3), 267-277. <https://doi.org/10.1080/09553009414551201>
- Michalik, V., Běgusová, M., et Bigildeev, E. A. (1998). Computer-Aided Stochastic Modeling of the Radiolysis of Liquid Water. *Radiation Research*, 149(3), 224-236. <https://doi.org/10.2307/3579955>
- Michaud, M., Wen, A., et Sanche, L. (2003). Cross sections for low-energy (1-100 eV) electron elastic and inelastic scattering in amorphous ice. *Radiation Research*, 159(1), 3-22.
- Miller, J. H., et Green, A. E. S. (1973). Proton Energy Degradation in Water Vapor. *Radiation Research*, 54(3), 343-363. <https://doi.org/10.2307/3573730>
- Morton, N. E. (1991). Parameters of the human genome. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 88(17), 7474-7476. <https://doi.org/10.1073/pnas.88.17.7474>
- Nikjoo, H., et Girard, P. (2012). A model of the cell nucleus for DNA damage calculations. *International Journal of Radiation Biology*, 88(1-2), 87-97. <https://doi.org/10.3109/09553002.2011.640860>

- Nikjoo, H., Goodhead, D. T., Charlton, D. E., et al. (1989). Energy deposition in small cylindrical targets by ultrasoft X-rays. *Physics in Medicine and Biology*, 34(6), 691-705. <https://doi.org/10.1088/0031-9155/34/6/005>
- Nikjoo, H., Martin, R. F., Charlton, D. E., et al. (1996). Modelling of Auger-Induced Dna Damage by Incorporated¹²⁵I. *Acta Oncologica*, 35(7), 849-856. <https://doi.org/10.3109/02841869609104036>
- Nikjoo, H., Uehara, S., Emfietzoglou, D., et al. (2006). Track-structure codes in radiation research. *Radiation Measurements*, 41(9), 1052-1074. <https://doi.org/10.1016/j.radmeas.2006.02.001>
- Olins, D. E., et Olins, A. L. (2003). Chromatin history: our view from the bridge. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, 4(10), 809-814. <https://doi.org/10.1038/nrm1225>
- O'Neill, P., et Wardman, P. (2009). Radiation chemistry comes before radiation biology. *International Journal of Radiation Biology*, 85(1), 9-25. <https://doi.org/10.1080/09553000802640401>
- Paganetti, H. (2018). Proton Relative Biological Effectiveness - Uncertainties and Opportunities. *International Journal of Particle Therapy*, 5(1), 2-14. <https://doi.org/10.14338/IJPT-18-00011.1>
- Paretzke, H. G. (1987). Radiation track structure theory. *Kinetics of Non-homogeneous Processes.*, 89-170
- Pawlik, T. M., et Keyomarsi, K. (2004). Role of cell cycle in mediating sensitivity to radiotherapy. *International Journal of Radiation Oncology Biology Physics*, 59(4), 928-942. <https://doi.org/10.1016/j.ijrobp.2004.03.005>
- Pimblott, S. M., et LaVerne, J. A. (1992). Scavenger concentration dependences of yields in radiation chemistry. *The Journal of Physical Chemistry*, 96(2), 746-752. <https://doi.org/10.1021/j100181a041>
- Pimblott, S. M., LaVerne, J. A., Mozumder, A., et al. (1990). Structure of electron tracks in water. Distribution of energy deposition events. *The Journal of Physical Chemistry*, 94(1), 488-495. <https://doi.org/10.1021/j100364a084>
- Pinak, M., et Ito, A. (1993). Energy deposition in structural parts of DNA by monoenergetic electrons. *Journal of Radiation Research*, 34(3), 221-234. <https://doi.org/10.1269/jrr.34.221>
- Plante, I., et Cucinotta, F. A. (2009). Cross sections for the interactions of 1 eV-100 MeV electrons in liquid water and application to Monte-Carlo simulation of HZE radiation tracks. *New Journal of Physics*, 11, 063047. <https://doi.org/10.1088/1367-2630/11/6/063047>
- Plante, I., et Devroye, L. (2017). Considerations for the independent reaction times and step-by-step methods for radiation chemistry simulations. *Radiation Physics and Chemistry*, 139, 157-172. <https://doi.org/10.1016/j.radphyschem.2017.03.021>
- Pomplun, E. (1991). A new DNA target model for track structure calculations and its first application to I-125 Auger electrons. *International Journal of Radiation Biology*, 59(3), 625-642.
- Pomplun, E., et Terrissol, M. (1994). Low-energy electrons inside active DNA models: A tool to elucidate the radiation action mechanisms. *Radiation and Environmental Biophysics*, 33(4), 279-292. <https://doi.org/10.1007/BF01210450>

- Pszona, S., Kula, J., et Marjanska, S. (2000). A new method for measuring ion clusters produced by charged particles in nanometre track sections of DNA size. *Nuclear Instruments and Methods in Physics Research Section A: Accelerators, Spectrometers, Detectors and Associated Equipment*, 447(3), 601-607. [https://doi.org/10.1016/S0168-9002\(99\)01191-2](https://doi.org/10.1016/S0168-9002(99)01191-2)
- Rabus, H., et Nettelbeck, H. (2011). Nanodosimetry: Bridging the gap to radiation biophysics. *Radiation Measurements*, 46(12), 1522-1528. <https://doi.org/10.1016/j.radmeas.2011.02.009>
- Richmond, T. J., et Davey, C. A. (2003). The structure of DNA in the nucleosome core. *Nature*, 423(6936), 145-150. <https://doi.org/10.1038/nature01595>
- Robinson, P. J., et Rhodes, D. (2006). Structure of the '30nm' chromatin fibre: A key role for the linker histone. *Current Opinion in Structural Biology*, 16(3), 336-343. <https://doi.org/10.1016/j.sbi.2006.05.007>
- Rossi, H. H. (1960). Spatial distribution of energy deposition by ionizing radiation. *Radiation Research, Suppl.*, Vol: 2. <https://doi.org/10.2307/3583601>
- Rudd, M. E., Kim, Y.-K., Madison, D. H., et al. (1985). Electron production in proton collisions: total cross sections. *Reviews of Modern Physics*, 57, 965-994. <https://doi.org/10.1103/RevModPhys.57.965>
- Saenger, W. (1984). *Principles of Nucleic Acid Structure*. New York: Springer-Verlag.
- Sakata, D., Lampe, N., Karamitros, M., et al. (2019). Evaluation of early radiation DNA damage in a fractal cell nucleus model using Geant4-DNA. *Physica Medica*, 62, 152-157. <https://doi.org/10.1016/j.ejmp.2019.04.010>
- Sanz, A. G., Fuss, M. C., Muñoz, A., et al. (2012). Modelling low energy electron and positron tracks for biomedical applications. *International Journal of Radiation Biology*, 88(1-2), 71-76. <https://doi.org/10.3109/09553002.2011.624151>
- Schipler, A., et Iliakis, G. (2013). DNA double-strand-break complexity levels and their possible contributions to the probability for error-prone processing and repair pathway choice. *Nucleic Acids Research*, 41(16), 7589-7605. <https://doi.org/10.1093/nar/gkt556>
- Schuemann, J., McNamara, A. L., Warmenhoven, J. W., et al. (2019). A New Standard DNA Damage (SDD) Data Format. *Radiation Research*, 191(1), 76-92. <https://doi.org/10.1667/RR15209.1>
- Semenenko, V. A., Turner, J. E., et Borak, T. B. (2003). NOREC, a Monte Carlo code for simulating electron tracks in liquid water. *Radiation and Environmental Biophysics*, 42(3), 213-217. <https://doi.org/10.1007/s00411-003-0201-z>
- Štěpán, V., et Davidková, M. (2006). Theoretical modelling of radiolytic damage of free DNA bases and within DNA macromolecule. *Radiation Protection Dosimetry*, 122(1-4), 110-112. <https://doi.org/10.1093/rpd/ncl417>
- Taleei, R., Girard, P. M., Sankaranarayanan, K., et al. (2013). The Non-homologous End-Joining (NHEJ) Mathematical Model for the Repair of Double-Strand Breaks: II. Application to Damage Induced by Ultrasoft X Rays and Low-Energy Electrons. *Radiation Research*, 179(5), 540-548. <https://doi.org/10.1667/RR3124.1>
- Terrissol, M., et Beaudré, A. (1990). Simulation of Space and Time Evolution of Radiolytic Species Induced by Electrons in Water. *Radiation Protection Dosimetry*, 31(1-4), 175-177. <https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.rpd.a080660>

- Tomita, H., Kai, M., Kusama, T., et al. (1997). Monte Carlo simulation of physicochemical processes of liquid water radiolysis. *Radiation and Environmental Biophysics*, 36(2), 105-116. <https://doi.org/10.1007/s004110050061>
- Trojer, P., et Reinberg, D. (2007). Facultative Heterochromatin: Is There a Distinctive Molecular Signature? *Molecular Cell*, 28(1), 1-13. <https://doi.org/10.1016/j.molcel.2007.09.011>
- Trompier, F., Delacroix, S., Vabre, I., et al. (2007). Secondary exposure for 73 and 200 MeV proton therapy. *Radiation Protection Dosimetry*, 125(1-4), 349-354. <https://doi.org/10.1093/rpd/ncm154>
- Turner, J. E. (2007). Chemical and Biological Effects of Radiation. In *Atoms, Radiation, and Radiation Protection* (p. 399-447). John Wiley & Sons, Ltd. <https://doi.org/10.1002/9783527616978.ch13>
- Uehara, S., Nikjoo, H., et Goodhead, D. T. (1993). Cross-sections for water vapour for the Monte Carlo electron track structure code from 10 eV to the MeV region. *Physics in Medicine and Biology*, 38(12), 1841-1858. <https://doi.org/10.1088/0031-9155/38/12/010>
- Uehara, S., et Nikjoo, H. (2002). Monte Carlo Track Structure Code for Low-Energy Alpha-Particles in Water. *The Journal of Physical Chemistry B*, 106(42), 11051-11063. <https://doi.org/10.1021/jp014004h>
- Uehara, S., Toburen, L. H., et Nikjoo, H. (2001). Development of a Monte Carlo track structure code for low-energy protons in water. *International Journal of Radiation Biology*, 77(2), 139-154. <https://doi.org/10.1080/09553000010012536>
- Umrania, Y., Nikjoo, H., et Goodfellow, J. M. (1995). A knowledge-based model of DNA hydration. *International Journal of Radiation Biology*, 67(2), 145-152.
- Ussery, D. W. (2002). DNA Structure: A-, B- and Z-DNA Helix Families. In *eLS*. American Cancer Society. <https://doi.org/10.1038/npg.els.0003122>
- Vignard, J., Mirey, G., et Salles, B. (2013). Ionizing-radiation induced DNA double-strand breaks: A direct and indirect lighting up. *Radiotherapy and Oncology*, 108(3), 362-369. <https://doi.org/10.1016/j.radonc.2013.06.013>
- Watson, J. D., et Crick, F. H. C. (1953). Molecular Structure of Nucleic Acids: A Structure for Deoxyribose Nucleic Acid. *Nature*, 171(4356), 737-738. <https://doi.org/10.1038/171737a0>
- Wiklund, K., Fernández-Varea, J. M., et Lind, B. K. (2011). A Monte Carlo program for the analysis of low-energy electron tracks in liquid water. *Physics in Medicine and Biology*, 56(7), 1985-2003. <https://doi.org/10.1088/0031-9155/56/7/005>
- Wilson, W. E., Miller, J. H., Lynch, D. J., et al. (2004). Analysis of Low-Energy Electron Track Structure in Liquid Water. *Radiation Research*, 161(5), 591-596. <https://doi.org/10.1667/RR3179>
- Wilson, W. E., et Nikjoo, H. (1999). A Monte Carlo code for positive ion track simulation. *Radiation and Environmental Biophysics*, 38(2), 97-104. <https://doi.org/10.1007/s004110050144>
- Wing, R., Drew, H., Takano, T., et al. (1980). Crystal structure analysis of a complete turn of B-DNA. *Nature*, 287(5784), 755-758.

Zaider, M., Brenner, D. J., et Wilson, W. E. (1983). The Applications of Track Calculations to Radiobiology I. Monte Carlo Simulation of Proton Tracks. *Radiation Research*, 95(2), 231-247. <https://doi.org/10.2307/3576252>

Chapitre 2 - Outils et méthodes

Sommaire

2.1 SymVox/DnaFabric	69
2.1.1 Présentation et objectifs du logiciel	69
2.1.2 Modélisation géométrique multi-échelles de l'ADN	70
2.1.3 Modélisation géométrique de noyaux cellulaires	71
2.1.4 Extension des modèles dans DnaFabric	73
2.2 Etude de la validité de la physique et de la chimie de Geant4-DNA	77
2.2.1 Physique : comparaison des modèles physiques implémentés dans Geant4-DNA avec les données expérimentales	78
2.2.2 Chimie : comparaison du modèle chimique implémenté dans Geant4-DNA avec les données expérimentales	85
2.3 Simulation des dommages à l'ADN avec Geant4-DNA	87
2.3.1 Module Physique : phys_geo	87
2.3.1.1 Prise en compte des géométries	87
2.3.1.2 Déroulement de la simulation de la partie physique	90
2.3.2 Module Chimique : chem_geo	91
2.3.2.1 Principe de chem_geo	91
2.3.2.2 Modifications du code source de Geant4 pour la chimie	92
2.3.2.3 Modifications et ajouts des réactions chimiques	92
2.3.2.4 Prise en compte du scavenging dans la simulation	94
2.3.3 Calculs des dommages radio-induits précoces à l'ADN	94
2.4 Configurations de la simulation des irradiations	97
2.4.1 Configurations spatiales des irradiations	97
2.4.2 Particularité des simulations photons	99
2.5 Conclusions du chapitre	100
Références	102

Dans ce chapitre, les outils et méthodes utilisés et développés tout au long de cette thèse sont décrits. Globalement, deux outils essentiels développés lors de la thèse précédente ont été utilisés. Tout d'abord, la librairie SymVox et son application DnaFabric permettant la génération des modèles géométriques d'ADN et de noyaux cellulaires seront présentées ainsi que les extensions effectuées dans le code lors de ce travail afin de répondre aux besoins de cette thèse à savoir, prendre en compte les différentes formes de compaction de la chromatine. Ensuite, la validation des modèles physiques et chimiques de Geant4-DNA (Geant4 version 10.1.p02) sera présentée. Enfin, nous exposerons la chaîne de calcul basée sur Geant4-DNA permettant la simulation des différentes étapes survenant lors de l'exposition aux rayonnements ionisants et les modifications apportées par rapport à la version précédente.

2.1 SymVox/DnaFabric

2.1.1 Présentation et objectifs du logiciel

L'intégration dans la simulation Monte-Carlo des modèles de noyaux cellulaires et la représentation de leur génome entier est une méthode permettant d'évaluer et de prédire les dommages précoces à l'ADN induits par les rayonnements ionisants. En effet, l'ADN est une cible essentielle des dommages radio-induits. Il devient donc important de pouvoir modéliser des géométries multi-échelles complexes de l'ADN et ce, de façon la plus réaliste possible car la simulation des dépôts d'énergie et des réactions chimiques est réalisée à l'échelle moléculaire. DnaFabric a été développé dans le but de répondre au besoin de modèles géométriques de noyaux cellulaires et d'ADN multi-échelles réalistes dans les calculs Monte-Carlo des dommages radio-induits précoces. DnaFabric est un logiciel écrit en C++, qui a été développé durant la thèse de Sylvain Meylan [MEYLAN, 2016]. Ce logiciel est dédié à la génération, la visualisation ainsi que l'export de modèles 3D complexes multi-échelles de l'ADN allant de la paire de nucléotides à la génération complète du génome humain (6 Gbp). L'un des atouts majeurs de DnaFabric est sa capacité à exporter les géométries générées sous forme de fichiers pouvant être lus par des codes de simulation Monte-Carlo et plus particulièrement Geant4 pour lequel un interpréteur est proposé. Récemment, tous les outils nécessaires pour permettre la création, l'édition et le rendu en temps réel d'un nombre important de géométries 3D ont été réunis dans une librairie « open-source » appelée SymVox qui sera bientôt disponible à l'adresse web <http://www.symalgo-tech.com/>. DnaFabric est désormais une application particulière de SymVox dédiée spécifiquement à la génération des géométries d'ADN.

2.1.2 Modélisation géométrique multi-échelles de l'ADN

Dans DnaFabric, l'ADN est modélisé à différentes échelles allant de la paire de nucléotides jusqu'au génome humain entier (6 Gbp). Dans cette sous-partie du chapitre, nous allons nous intéresser aux niveaux allant de la paire de nucléotides jusqu'à la fibre de chromatine car c'est à ce niveau que les modifications nécessaires à ce travail ont été introduites.

Au sein de ce logiciel, les constituants de l'ADN sont représentés par des formes sphériques. En effet, les molécules de 2-désoxyribose, de phosphate ainsi que des bases de l'ADN (adénine, guanine, thymine et cytosine), qui constituent un nucléotide, sont modélisées par des sphères de $0,091 \text{ nm}^3$, $0,060 \text{ nm}^3$ et $0,093 \text{ nm}^3$ respectivement dont les tailles et les positions proviennent des fichiers *Protein Data Bank* (PDB) [MEYLAN, 2016]. Ensuite, les paires de nucléotides sont empilées en suivant une succession de translation ($0,33 \text{ nm}$ le long de l'axe Z) et rotation (36° selon l'axe Z) afin de former la double hélice d'ADN représentant la configuration B-DNA illustrée dans la figure 2.1 [BERNAL et al., 2013]. La valeur du pitch, qui est le nombre de paires de bases par tour de la double hélice, est égale à 10 bp. Puis, la double hélice est torsadée autour de l'histone, modélisée par une sphère de $2,4 \text{ nm}$, afin de former un nucléosome. Chaque nucléosome contient 154 paires de nucléotides. Deux nucléosomes adjacents sont reliés par des linkers (chaîne de paires de nucléotides), où chaque couple nucléosome-linker comporte au maximum 200 paires de nucléotides. Ainsi, la fibre de chromatine est modélisée. Cette fibre de chromatine est répartie dans cinq types de voxels cubiques de 50 nm de côté : droit, haut, bas, droite et gauche. L'utilisation de voxels permet de remplir de manière optimisée, un espace donné dans toutes les directions tout en conservant la continuité de la fibre de chromatine. Dans chacun de ces voxels, des positions de « début » et de « fin » sont définies afin de pouvoir placer les voxels de manière successive et de s'assurer que la fibre soit bien continue entre les voxels. Un schéma des différents niveaux de l'ADN de la paire de nucléotides jusqu'au voxel est représenté sur la figure 2.2.

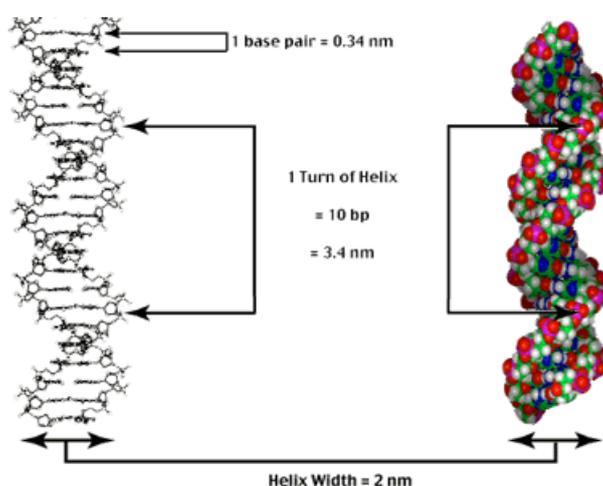


Figure 2.1 : Caractéristiques de la conformation B-DNA (source : <http://faculty.tru.ca/dnelson/courses/biol335/335notes/1nastructure/nastruct5.html>).

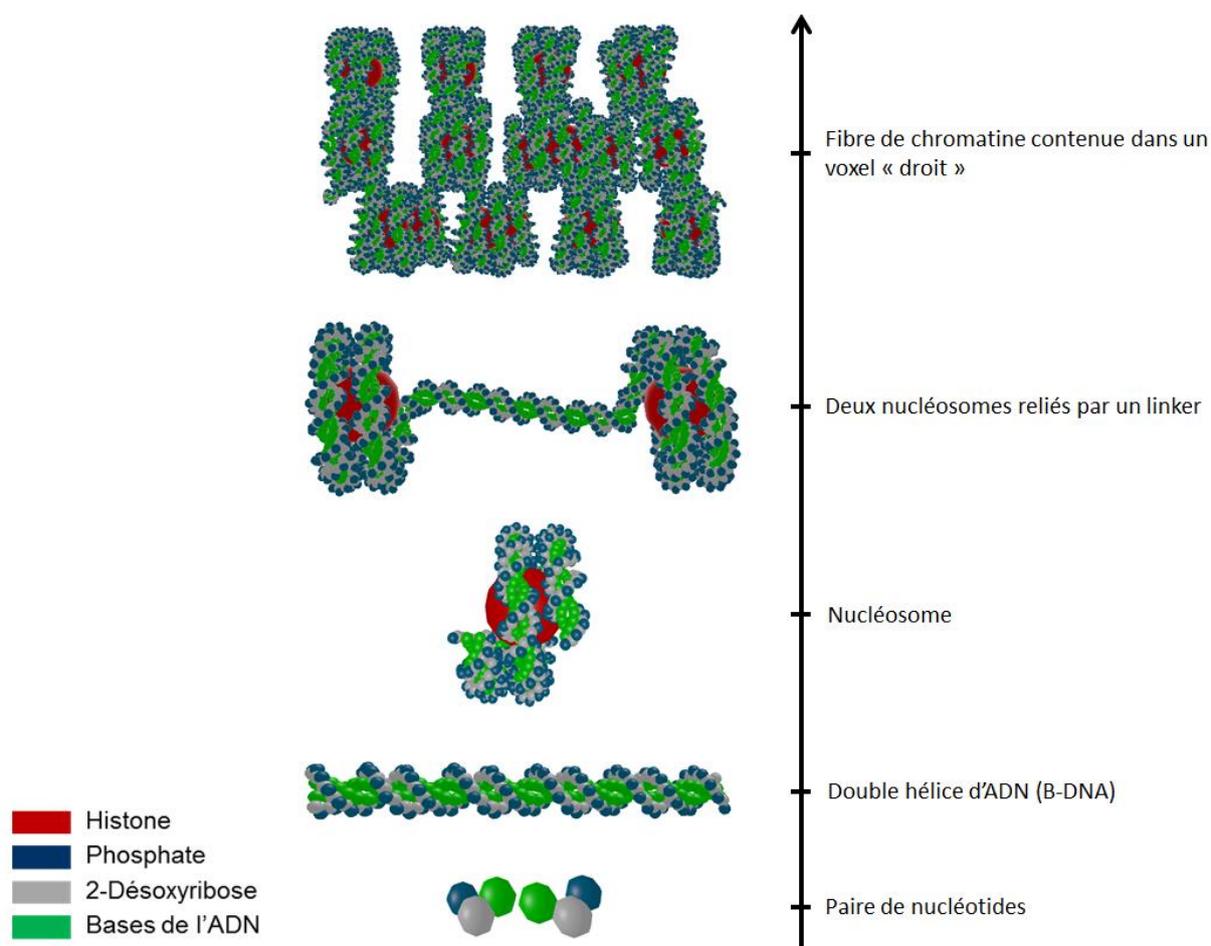


Figure 2.2 : Représentation multi-échelles de l'ADN de la paire de nucléotides jusqu'à la fibre de chromatine dans DnaFabric.

2.1.3 Modélisation géométrique de noyaux cellulaires

La génération d'un noyau cellulaire rempli d'ADN en phase G0/G1 au sein de DnaFabric se décompose en différentes étapes.

La première étape consiste à définir la forme et la taille du noyau. Plusieurs formes sont disponibles par défaut dans le logiciel : ellipsoïde, cylindre elliptique, cylindre ou sphère.

Viennent ensuite le choix et le placement du génome sous forme condensée à l'intérieur du noyau. Chaque chromosome est modélisé sous la forme d'une chaîne linéaire composée d'une succession de sphères de rayon égale à 500 nm représentant chacune un domaine de 1 Mbp, chaque domaine étant séparé de 14 nm [KRETH et al., 2004]. Le nombre de domaine est alors directement proportionnel au contenu en ADN du chromosome donné.

La troisième étape consiste à simuler la relaxation du génome condensé [KRETH et al., 2004] permettant de modéliser les différents domaines chromosomiques en phase G0/G1 du cycle cellulaire.

Cette phase correspond à une phase de quiescence durant laquelle la quantité d'ADN reste constante (6 Gbp) et l'ADN occupe de façon homogène tout le volume du noyau cellulaire. Dans DnaFabric, la relaxation repose sur des phénomènes physiques et non biologiques puisqu'elle s'effectue par simulation Monte-Carlo en appliquant des potentiels attractifs et répulsifs entre les domaines afin d'occuper au maximum l'espace disponible [KRETH et al., 2004]. Les domaines sont ensuite remplis par les différents types de voxels en formant des boucles de chromatine suivant un algorithme de type Space Filling Curve (SFC), qui tend à occuper au maximum l'espace défini. La fibre de chromatine est donc continue dans chaque territoire chromosomique.

La dernière étape permet d'enregistrer la géométrie du noyau sous la forme d'un fichier au format *.fab2g4dna* pour exporter la géométrie ainsi créée vers la chaîne de calcul utilisant Geant4. Notons tout de même que la génération de noyaux cellulaires n'est pas limitée qu'aux cellules humaines mais qu'il est tout à fait possible de créer des noyaux de cellules d'autres espèces à condition d'indiquer le génome correspondant en définissant au préalable son contenu. A titre d'exemple, un modèle de noyau de cellule d'ovaire de hamster chinois (CHO) a été généré dans DnaFabric (figure 2.3) ainsi qu'un modèle de noyau de la levure *Saccharomyces Cerevisiae* qui sera présenté au chapitre 4.

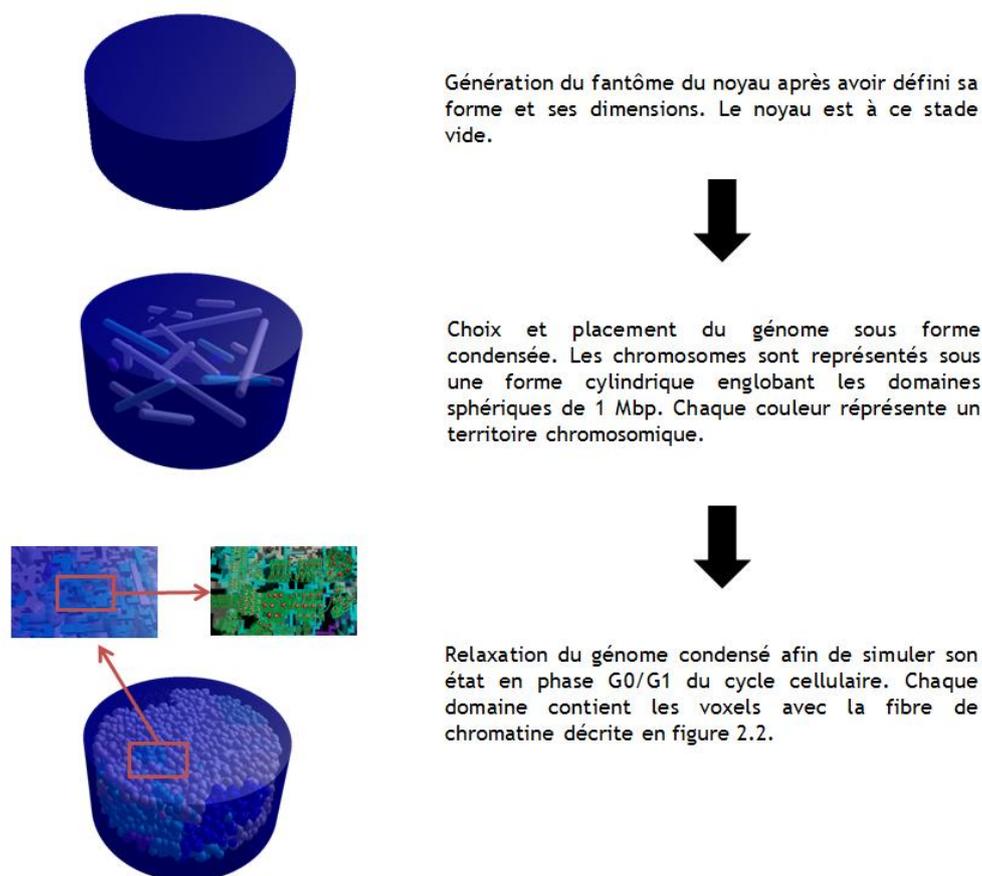


Figure 2.3 : Génération d'un noyau de cellule d'ovaire de hamster chinois (CHO) dans DnaFabric.

Dans la version développée durant la thèse précédente [MEYLAN, 2016], seul le modèle d'hétérochromatine était considéré. Ce modèle est représenté par une fibre de 30 nm de diamètre

où les nucléosomes sont placés de manière hélicoïdale. Trois modèles de noyaux cellulaires avaient été générés et ne comprenaient donc que la forme d'hétérochromatine : fibroblaste, lymphocyte et cellule endothéliale. Les caractéristiques de chaque noyau sont présentées dans le tableau 2.1 et leurs représentations illustrées à la figure 2.4. Ces modèles ne se distinguent que par leurs caractéristiques géométriques du noyau cellulaire, le modèle multi-échelles de l'ADN contenu restant le même.

Tableau 2.1 : Caractéristiques des modèles géométriques représentant les noyaux d'un fibroblaste, d'un lymphocyte et d'une cellule endothéliale.

Caractéristiques	Fibroblaste	Lymphocyte	Endothéliale
Forme	Ellipsoïde	Sphérique	Cylindre elliptique
Dimensions	Demi-grand axe: 9,85 μm Demi-petit axe ₁ : 7,1 μm Demi-petit axe ₂ : 2,5 μm	Rayon: 5,0 μm	Demi-grand axe: 9,5 μm Demi-petit axe: 5,1 μm Hauteur: 2,0 μm
Volume (μm^3)	732,4	523,6	304,4
Nombre de territoires chromosomiques	46	46	46
Taille du génome (Gbp)	6	6	6

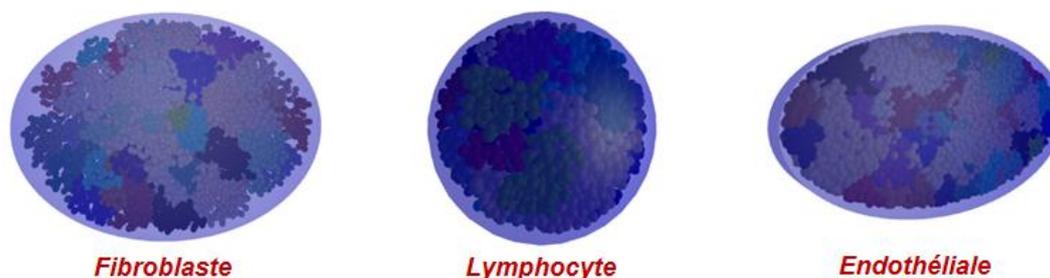


Figure 2.4 : Représentation des modèles de noyaux du fibroblaste, lymphocyte et de la cellule endothéliale dans DnaFabric [MEYLAN, 2016].

Il est donc apparu nécessaire de développer un modèle géométrique représentant l'euchromatine afin de générer des modèles de noyaux plus réalistes pouvant répondre à la question principale de ce travail de thèse, à savoir, le rôle de la compaction de la chromatine sur l'induction de dommages précoces à l'ADN.

2.1.4 Extension des modèles dans DnaFabric

Dans ce travail de thèse, des ajouts et des modifications ont été apportées par rapport à la version initiale de DnaFabric. Ils concernent en majorité l'implémentation d'un nouveau modèle représentant l'euchromatine [TANG et al., 2019] par l'addition de cinq nouveaux types de voxels comme effectué dans le cas de l'hétérochromatine : droit, haut, bas, droite et gauche. Les voxels d'euchromatine peuvent être combinés avec ceux d'hétérochromatine tout en veillant à préserver la continuité de la

fibre tout le long des voxels comme le montre la figure 2.5. Ces cinq nouveaux types de voxel contiennent moins de nucléosomes et donc moins de paires de bases que les cinq types de voxels d'hétérochromatine comme indiqué dans le tableau 2.2. Comme indiqué au chapitre 1 (Cf. Section 1.3.2), cette approche a été utilisée par le passé dans le code PARTRAC [FRIEDLAND et al., 2013]. Notamment, la distance inter-nucléosomale dans les voxels d'euchromatine n'est pas constante et les nucléosomes sont placés de manière à augmenter cette distance vis-à-vis des voxels représentant l'hétérochromatine afin de reproduire cette décondensation. On perd alors cette disposition hélicoïdale typique de la fibre de 30 nm et la chromatine est alors disposée en fibre de 10 nm sous la forme de « collier de perles ».

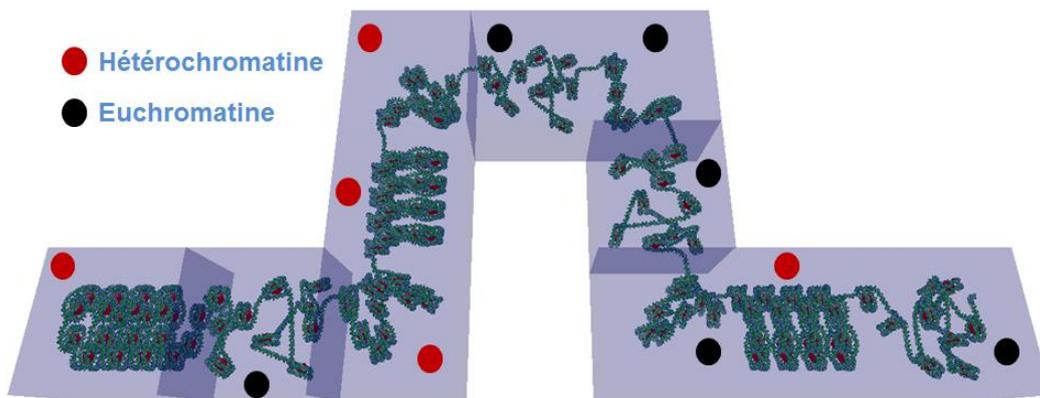


Figure 2.5 : Fibre de chromatine composée par une association de cinq voxels d'hétérochromatine et six voxels d'euchromatine [TANG et al, 2019].

Une nouvelle fonctionnalité a également été ajoutée dans l'interface utilisateur graphique de DnaFabric (figure 2.6). L'utilisateur peut fixer la proportion d'euchromatine lors de la génération du noyau cellulaire grâce à l'ajout de deux fonctions `VoxelContainer::GetPercentageVoxel()` et `VoxelContainer::SetPercentageVoxel()`, permettant d'entrer le pourcentage d'euchromatine voulu et de l'appliquer lors de la génération du noyau. En fixant par exemple une proportion de 50% d'euchromatine, le noyau sera composé de 50% de voxels « euchromatine » et de 50% de voxels « hétérochromatine » répartis de manière aléatoire et uniforme lors de sa création pour un total de 6 Gbp lors de la génération de noyaux de cellules humaines.

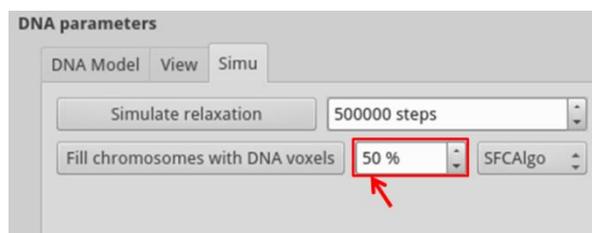


Figure 2.6 : Modification de l'interface utilisateur graphique avec l'ajout d'une option permettant de fixer la proportion d'euchromatine au sein du noyau cellulaire.

De par l'implémentation de nouveaux voxels représentant l'euchromatine, il est maintenant possible de générer des noyaux cellulaires plus réalistes comprenant les deux niveaux de compaction de la chromatine. Cependant, les différents types cellulaires présentent différentes proportions et distributions d'hétérochromatine et d'euchromatine au sein de leurs noyaux selon leur niveau de différenciation. Ces différents types de cellules peuvent dans certains cas avoir une proportion plus élevée d'hétérochromatine et peuvent même présenter des régions distinctes d'hétérochromatine et d'euchromatine plutôt qu'une distribution homogène des deux niveaux de compaction. Nous pouvons trouver dans la littérature que les noyaux de fibroblastes humains ont en général plus de chromatine condensée avec une répartition uniforme [VENKATESH et al., 2016] tandis que dans les noyaux de lymphocytes humains, l'hétérochromatine a tendance à se trouver au niveau de la périphérie du noyau et l'euchromatine au cœur de celui-ci [CREMER et al., 2001]. Néanmoins, il reste difficile de trouver dans la littérature des mesures quantifiant la proportion d'hétérochromatine et d'euchromatine au sein de ces noyaux. Ainsi, des mesures expérimentales ont été effectuées par le groupe de radiobiologistes de l'IRSN (IRSN/PSE-SANTE/SERAMED/LRacc) qui ont déterminé, à l'aide de marqueurs spécifiques, la distribution d'hétérochromatine et d'euchromatine dans les noyaux de cellules endothéliales de veines ombilicales humaines (Human Umbilical Vein Endothelial Cells, HUVECs). L'utilisation du marqueur H4K5ac a permis la visualisation de l'euchromatine tandis que H3K9me3 a été utilisé comme marqueur de l'hétérochromatine. Comme nous pouvons le constater sur la figure 2.7, la distribution de la forme condensée et décondensée de la chromatine dans les noyaux de cellules endothéliales semble être uniforme. De plus, les mesures effectuées par les radiobiologistes du LRacc indiquent en moyenne, des proportions de 52% d'euchromatine et 48% d'hétérochromatine.

Afin de pouvoir pleinement étudier l'influence de la compaction de la chromatine sur les dommages radio-induits précoces à l'ADN à l'échelle du noyau, j'ai fait le choix, dans un premier temps, de générer un noyau de fibroblaste rempli exclusivement d'euchromatine. Les taux de cassures directes et indirectes pourront ainsi être comparés à ceux du précédent modèle ne comprenant que la géométrie d'hétérochromatine. Ensuite, j'ai généré le modèle réaliste du noyau de cellule endothéliale basé sur les mesures expérimentales menées à l'IRSN pour simuler de façon plus précise les dommages à l'ADN. Les compositions des différents modèles de noyaux cellulaires en termes de nombre de voxels de chaque type figurent dans le tableau 2.3. Les résultats concernant ces nouveaux modèles seront présentés dans le chapitre 3.

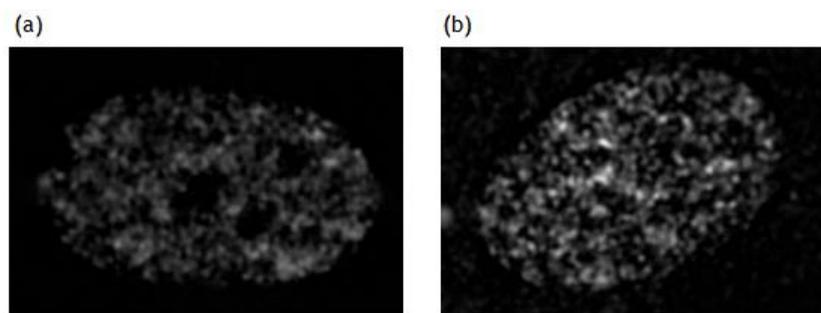


Figure 2.7 : Distribution de (a) l'euchromatine et de (b) l'hétérochromatine dans une HUVEC (Human Umbilical Vein Endothelial Cells), à l'aide des marqueurs H4K5ac et H3K9me3 respectivement.

Soulignons le fait que pour le noyau de cellule endothéliale, la dimension des voxels a été modifiée à une valeur de 40 nm de côté (au lieu de 50 nm) afin de pouvoir remplir le noyau avec 6 Gbp en prenant en compte les deux niveaux de compaction de la chromatine. Cela est dû au fait d'une part que le nombre de paires de bases contenu dans les voxels d'euchromatine est beaucoup moins important que celui contenu dans ceux d'hétérochromatine ; d'autre part, le noyau de la cellule endothéliale est environ deux fois plus petit que celui du fibroblaste ($304 \mu\text{m}^3$ et $732 \mu\text{m}^3$ respectivement). De ce fait, des voxels de côté initial de 50 nm ne permettaient pas de contenir les 6 Gbp en incluant les deux niveaux de compaction et ce, en utilisant l'algorithme de remplissage implémenté dans DnaFabric. Une réduction des dimensions du voxel à 40 nm x 40 nm x 40 nm était alors nécessaire. La suppression de 6 nucléosomes de la fibre de chromatine du « voxel droit » initial a été effectuée lors du passage à 40 nm. Les autres types de voxels ne sont pas impactés car la longueur de la fibre est inférieure à 40 nm. Cependant, les points de « début » et de « fin » des voxels ont été changés pour s'adapter aux nouvelles dimensions, d'où les très légères différences dans le nombre de paires de bases contenues dans ces nouveaux voxels.

Tableau 2.2 : Nombre de paires de bases et nombre de nucléosomes pour chaque type de voxel d'hétérochromatine (HC) et d'euchromatine (EC) et pour chaque longueur de voxel (50 nm et 40 nm).

Type du voxel	Longueur du voxel (nm)	Nombre de bp		Nombre de nucléosomes	
		HC	EC	HC	EC
Droit	50	4860	2059	24	10
	40	3640	2057	18	10
Gauche	50	2461	1692	12	8
	40	2448	1692	12	8
Droite	50	2459	1690	12	8
	40	2450	1692	12	8
Haut	50	2466	1684	12	8
	40	2454	1683	12	8
Bas	50	2470	1706	12	8
	40	2461	1706	12	8

Tableau 2.3 : Nombre de chaque type de voxels contenu dans chaque modèle de noyau cellulaire.

Type du voxel	Fibroblaste 100% HC	Fibroblaste 100% EC	Lymphocyte 100% EC	Endothéliale 100% HC	Endothéliale 48% HC/52% EC
Droit HC	477 919	0	459 509	415 187	262 267
Droite HC	360 111	0	370 770	401 142	257 744
Gauche HC	360 385	0	369 707	399 796	258 294
Haut HC	384 336	0	391 897	402 975	257 469
Bas HC	376 355	0	384 995	398 350	257 684
Droit EC	0	792 211	0	0	284 595
Droite EC	0	734 134	0	0	278 971
Gauche EC	0	733 592	0	0	279 232
Haut EC	0	733 680	0	0	279 264
Bas EC	0	734 267	0	0	279 046
Total voxels	1 959 106	3 727 884	1 976 878	2 017 450	2 694 566

2.2 Etude de la validité de la physique et de la chimie de Geant4-DNA

Avant de détailler la chaîne de calcul basée sur l'extension Geant4-DNA (Geant4 version 10.1.p02), nous allons tout d'abord présenter l'étude de la validité des différents modèles physiques et de la

modélisation de la chimie dans Geant4-DNA qui ont été introduits au chapitre précédent (Cf. Chapitre 1 - Section 1.3.1.3).

2.2.1 Physique : comparaison des modèles physiques implémentés dans Geant4-DNA avec les données expérimentales

Pour la simulation des interactions physiques, nous allons nous intéresser aux comparaisons des différents processus physiques et de leurs modèles correspondants implémentés dans Geant4-DNA avec différentes données de référence comprenant des données expérimentales et des recommandations internationales. Ces comparaisons se retrouvent dans la publication de la collaboration Geant4-DNA [INCERTI et al., 2010].

Rappelons que Geant4-DNA permet les simulations dans l'eau liquide des cas suivants :

- Les électrons (de la thermalisation jusqu'à 1 MeV) : interactions élastiques (diffusion élastique), interactions inélastiques (excitation électronique ou vibrationnelle, ionisation, et attachement dissociatif).
- Les protons et les atomes d'hydrogène (de 10 eV à 100 MeV) : interactions inélastiques (excitation électronique et ionisation), transferts de charge (augmentation et diminution de charge).
- Les atomes d'hélium et leurs différents états de charge (de 1 keV à 400 MeV) : interactions inélastiques (excitation électronique et ionisation), transferts de charges (augmentation et diminution de charge).

En ce qui concerne la simulation des photons, la catégorie « Low Energy » de Geant4 contient déjà deux modèles alternatifs, « PENELOPE » et « Livermore », qui comprennent les sections efficaces d'interactions des photons (effet photoélectrique, effet Compton, création de paires et diffusion Rayleigh).

Notons également que Geant4-DNA est capable de simuler les processus d'ionisation dans la gamme 0,5 MeV/u - 10^6 MeV/u, pour d'autres ions non considérés dans ce travail de thèse comme les ions carbone, oxygène, fer etc. dominants dans le spectre cosmique.

Les modèles physiques de Geant4-DNA établis dans l'eau liquide ont pour le moment, été comparés principalement à des données expérimentales effectuées dans la vapeur d'eau dû au manque de données dans la phase liquide [INCERTI et al., 2010], ainsi qu'à des recommandations internationales. Nous nous limiterons ici aux modèles disponibles dans les versions 10.1.p02 et 10.2.p02 utilisées dans ce travail. Il faut néanmoins noter que, depuis 2018 (Geant4 versions 10.4 et 10.5), des nouveaux modèles ont été ajoutés notamment pour le transport des électrons qui ont fait l'objet de différents articles concernant leur validation [INCERTI et al., 2018 ; SHIN et al., 2019].

Dans la publication de la collaboration [INCERTI et al., 2010], nous pouvons voir que les modèles physiques implémentés dans Geant4-DNA pour l'eau liquide montrent, en général, un bon accord avec les données expérimentales obtenues dans la vapeur d'eau. Cependant, nous pouvons également observer des déviations plus ou moins importantes avec les données expérimentales dans certains cas comme les sections efficaces totales d'excitation des électrons ou les sections efficaces totales d'ionisations des atomes d'hélium.

Compte tenu de la difficulté de la comparaison directe des sections efficaces calculées avec les données expérimentales dans l'eau liquide, des comparaisons de pouvoir d'arrêt avec des recommandations internationales pour l'eau liquide ont été effectuées. Les pouvoirs d'arrêt des électrons, des protons et des atomes d'hydrogène, et des alphas dans l'eau liquide sont représentés dans les figures 2.8, 2.9 et 2.10 respectivement, et comparés à plusieurs recommandations pour l'eau liquide issues de l'ICRU (International Commission on Radiation Units and Measurements), du HRC (Handbook of Radiation Chemistry), du HRMP (Handbook of Radiation Measurement and Protection) et de l'IAEA (International Atomic Energy Agency). Les comparaisons des pouvoirs d'arrêt avec les différentes recommandations pour l'eau liquide montrent un très bon accord.

Cependant, gardons à l'esprit que l'utilisation de pouvoir d'arrêt ne permet pas de valider les modèles physiques en nanodosimétrie. De plus, une étude a porté sur l'impact de l'utilisation de différentes sections efficaces au niveau des résultats des simulations en microdosimétrie et nanodosimétrie [VILLAGRASA et al., 2019]. Il a été montré que différents codes de calcul et donc, différentes sections efficaces, montraient un bon accord pour les spectres microdosimétriques résultant des dépôts d'énergie dans un volume dont la taille représente celle d'un noyau cellulaire. En revanche, les résultats portant sur la nanodosimétrie et plus précisément sur l'étude de la distribution de la taille des clusters d'ionisations, ont montré des déviations allant jusqu'à 50% pour un même code de calcul mais pour des sections efficaces différentes. Dans l'attente de données expérimentales dans l'eau liquide, l'existence de ces déviations entre différentes sections efficaces rend donc difficile, la validation des modèles physiques permettant de simuler les grandeurs d'intérêt utilisées pour la nanodosimétrie. C'est pour cette raison que Geant4 dispose de plusieurs modèles.

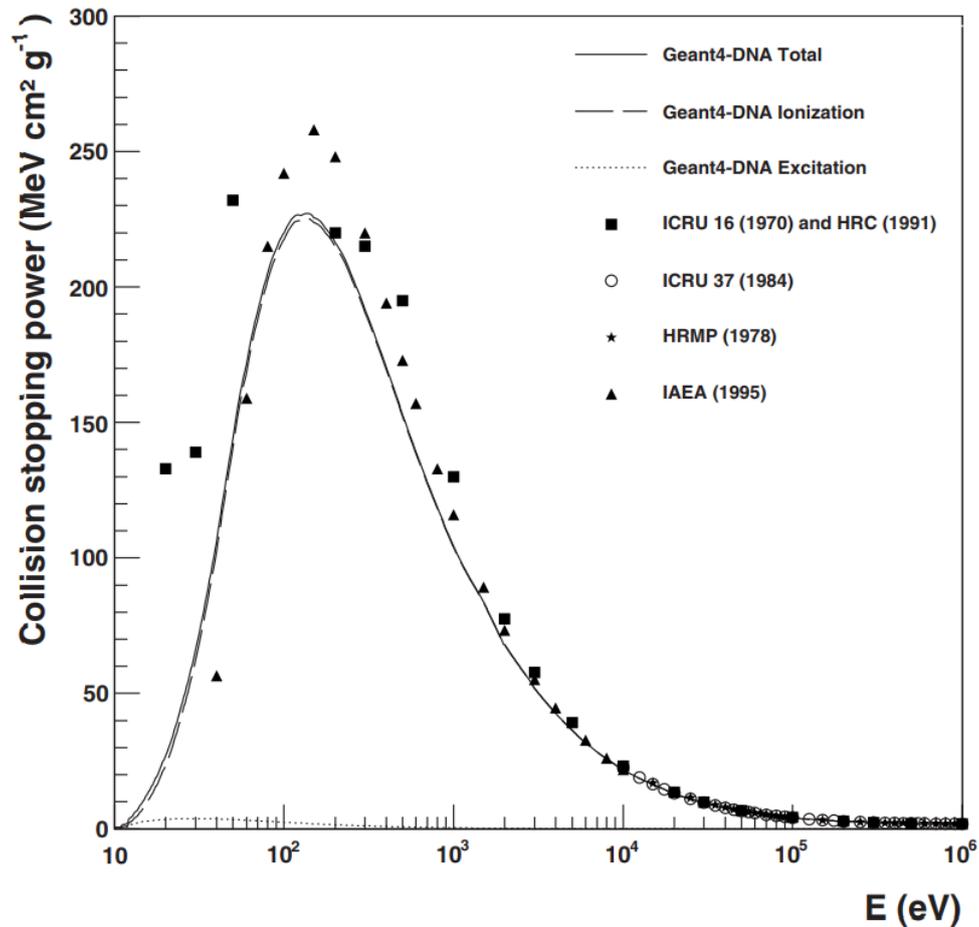


Figure 2.8 : Comparaison entre les pouvoirs d'arrêt massique des électrons dans l'eau liquide calculés avec les modèles d'excitation et d'ionisation de Geant4-DNA et plusieurs recommandations pour l'eau liquide issues de l'ICRU (International Commission on Radiation Units and Measurements), du HRC (Handbook of Radiation Chemistry), du HRMP (Handbook of Radiation Measurement and Protection) et de l'IAEA (International Atomic Energy Agency) [INCERTI et al., 2010].

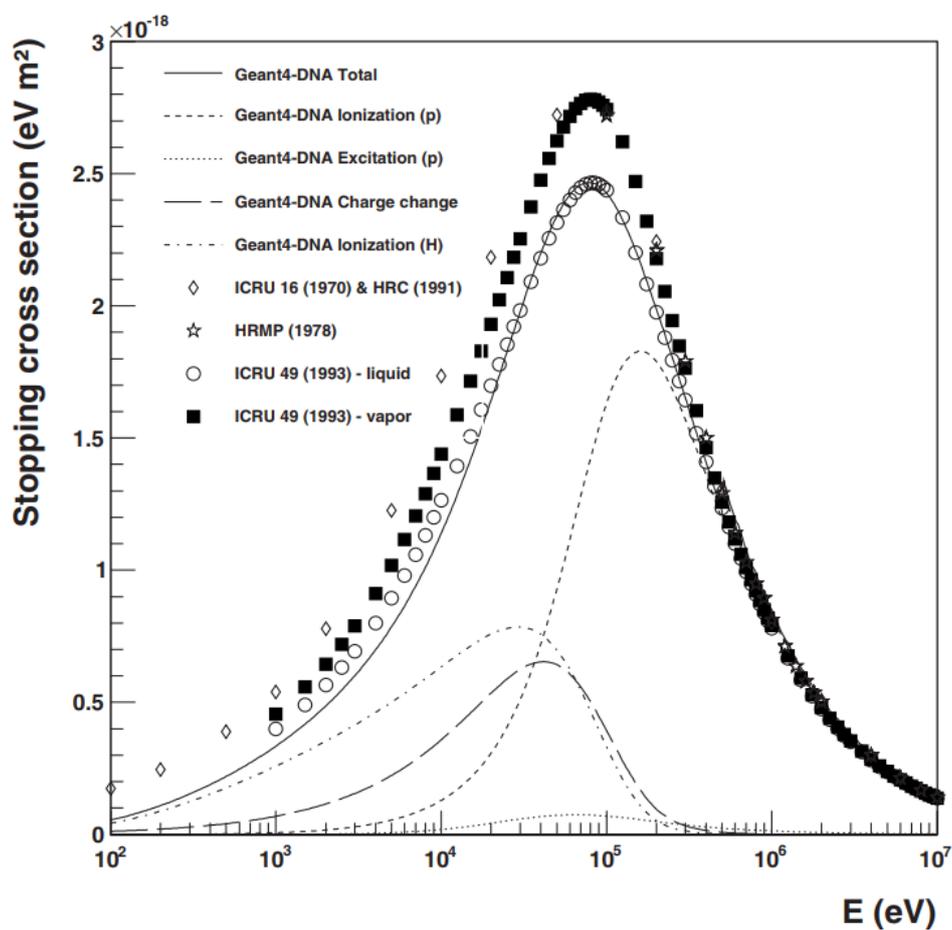


Figure 2.9 : Comparaison entre les sections efficaces du pouvoir d'arrêt des protons et des atomes d'hydrogène dans l'eau liquide calculées avec les modèles d'excitation et d'ionisation de Geant4-DNA, et plusieurs recommandations de l'ICRU (International Commission on Radiation Units and Measurements), du HRC (Handbook of Radiation Chemistry) et du HRMP (Handbook of Radiation Measurement and Protection) [INCERTI et al., 2010].

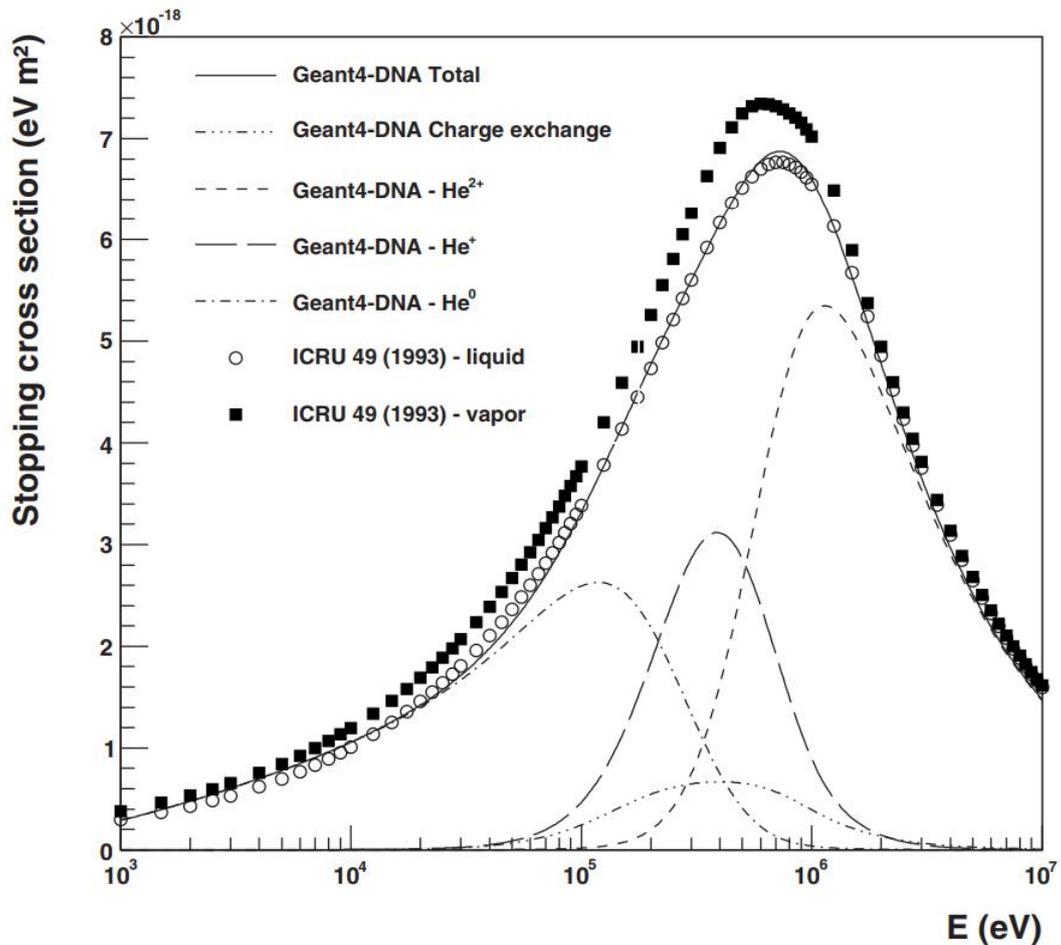


Figure 2.10 : Sections efficaces de pouvoir d'arrêt pour les atomes d'hélium et leurs différents états de charge dans l'eau liquide en fonction de l'énergie incidente [INCERTI et al., 2010]. Les sections efficaces ont été comparées aux recommandations de l'ICRU (International Commission on Radiation Units and Measurements).

Constructeur de physique

Dans Geant4, chaque type d'interaction physique est décrit via une « classe de processus physique » pouvant faire appel à différents modèles physiques, eux-mêmes décrits par une « classe de modèle physique ». Les processus et modèles physiques utilisés pour le transport de différentes particules peuvent être définis dans ce que l'on appelle un « constructeur de physique » ou une *physics list*. La liste des processus, les modèles, leur domaine de validité en énergie et leur énergie de coupure pour la *physics list* « *G4EmDNAPhysics* », qui est celle utilisée par défaut dans la version 10.1.p02 de Geant4, est présentée tableau 2.4. Dans cette thèse, cette *physics list* est utilisée pour les simulations basées sur cette version de Geant4.

Les simulations basées sur la version 10.2.p02 de Geant4 (Cf. Chapitre 1 - Section 1.3.1.3) utilisent la *physics list* *G4EmDNAPhysics_option2*, qui est une version « accélérée » du constructeur par défaut

mais utilisant les mêmes modèles physiques. Comme nous le verrons dans la suite de ce chapitre, cette version de Geant4 a été utilisée pour des simulations concernant des électrons. Cette option2 permet donc, comme par défaut, le transport des électrons de la thermalisation jusqu'à 1 MeV.

Tableau 2.4 : Liste des processus, classes de modèles, leur domaine de validité en énergie et leur énergie de coupure dans la *physics list* par défaut « *G4EmDNAPhysics* » de Geant4-DNA (Geant4 version 10.1.p02) pour les différents types de particule considérés.

Processus physique	Classe de modèle	Domaine de validité en énergie	Energie de coupure
e⁻			
Diffusion élastique	G4DNAMillerGreenElasticModel	7,4 eV - 1 MeV	7,4 eV
Excitation	G4DNABornExcitationModel	9 eV - 1 MeV	-
Ionisation	G4DNABornIonisationModel	11 eV - 1 MeV	-
Excitation Vibrationnelle	G4DNASancheExcitationModel	2 eV - 100 eV	-
Attachement dissociatif	G4DNAMeltonAttachmentModel	4 eV - 13 eV	-
H⁺			
Excitation	G4DNAMillerGreenExcitationModel	10 eV - 500 keV	-
	G4DNABornExcitationModel	500 keV - 100 MeV	-
Ionisation	G4DNARuddIonisationModel	0 eV - 500 keV	100 eV
	G4DNABornIonisationModel	500 keV - 100 MeV	-
Diminution de charge	G4DNADingfelderChargeDecreaseModel	100 eV - 100 MeV	-
H			
Excitation	G4DNAMillerGreenExcitationModel	10 eV - 500 keV	-
Ionisation	G4DNARuddIonisationModel	0 keV - 100 MeV	100 eV
Augmentation de charge	G4DNADingfelderChargeIncreaseModel	100 eV - 100 MeV	-
He⁰			
Excitation	G4DNAMillerGreenExcitationModel	1 keV - 400 MeV	-
Ionisation	G4DNARuddIonisationModel	0 keV - 400 MeV	1 keV
Augmentation de charge	G4DNADingfelderChargeIncreaseModel	1 keV - 400 MeV	-
He⁺			
Excitation	G4DNAMillerGreenExcitationModel	1 keV - 400 MeV	-
Ionisation	G4DNARuddIonisationModel	0 keV - 400 MeV	1 keV
Augmentation de charge	G4DNADingfelderChargeIncreaseModel	1 keV - 400 MeV	-
Diminution de charge	G4DNADingfelderChargeDecreaseModel	1 keV - 400 MeV	-
He²⁺			
Excitation	G4DNAMillerGreenExcitationModel	1 keV - 400 MeV	-
Ionisation	G4DNARuddIonisationModel	0 keV - 400 MeV	1 keV
Diminution de charge	G4DNADingfelderChargeDecreaseModel	1 keV - 400 MeV	-

2.2.2 Chimie : comparaison du modèle chimique implémenté dans Geant4-DNA avec les données expérimentales

Pour la vérification de la modélisation de la radiolyse, le rendement radiochimique des principales espèces moléculaires créées dans un volume d'eau liquide irradié est en général utilisé. Le rendement radiochimique d'une espèce donnée, noté $G(t)$, correspond pour un temps donné, au nombre de molécules produites pour une énergie totale absorbée de 100 eV dans le milieu irradié :

$$G(t) = \frac{N(t)}{E_{\text{dep}}} \quad (2.1)$$

Avec $N(t)$ le nombre de molécules en fonction du temps et E l'énergie totale déposée par la particule incidente dans le milieu correspondant à 100 eV.

Les rendements radiochimiques des e^-_{aq} et des OH^\bullet à 1 μs en fonction de différents TEL de protons sont représentés sur les figures 2.11 et 2.12 respectivement. Il est important de souligner que les données expérimentales concernant les rendements radiochimiques sont rares et en particulier pour les radicaux OH^\bullet dû à la difficulté de les mesurer (faible coefficient d'absorption). Pour cela, des techniques basées sur l'utilisation de « piègeurs » (« scavenging » en anglais) sont utilisées. De plus, les simulations ne reproduisent pas exactement les conditions expérimentales.

Dans les figures 2.11 et 2.12, nous pouvons observer un bon accord entre les valeurs de G obtenues pour les e^-_{aq} et les OH^\bullet avec Geant4-DNA, et ceux obtenus également en simulation par Kreipl et al. ainsi que les données expérimentales. De façon générale, le rendement radiochimique G diminue lorsque le TEL augmente. En effet, dans un volume donné, lorsque le TEL de la particule incidente augmente, l'énergie déposée à l'intérieur de ce volume est plus importante et donc, la dose est également plus importante. Les espèces chimiques sont formées à proximité les unes des autres entraînant une augmentation de la probabilité de réaction entre elles. Cela explique donc la diminution du rendement radiochimique lorsque le TEL augmente. Au contraire, à faible TEL, moins d'espèces chimiques sont créées et sont plus dispersées par rapport à un TEL élevé. De ce fait, la probabilité de rencontre entre les espèces chimiques est plus faible.

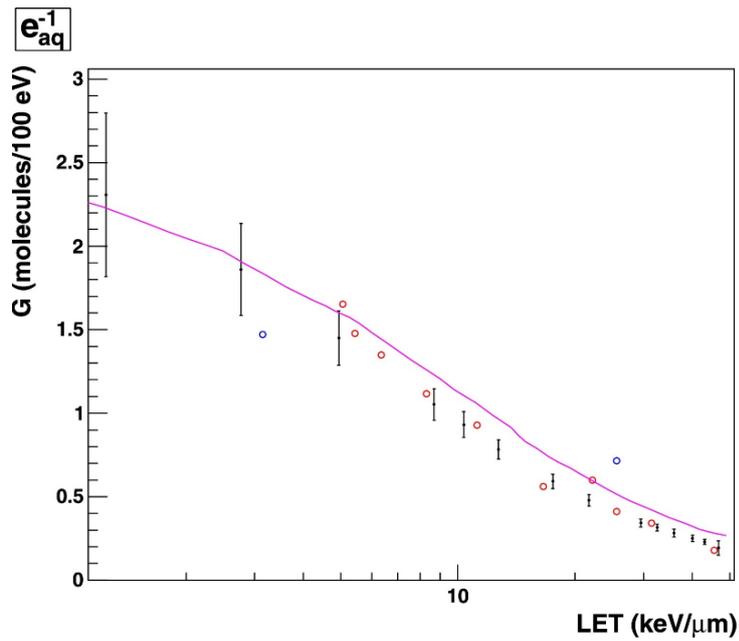


Figure 2.11 : Rendements des e_{aq}^- à 1 μ s en fonction de différents TEL de protons [KARAMITROS et al., 2014]. Les points avec les barres d'erreur correspondent aux résultats obtenus avec Geant4-DNA [KARAMITROS et al., 2014]. La courbe rose correspond aux résultats simulés par Kreipl et al. [KREIPL et al., 2009]. Les cercles correspondent aux données expérimentales : en bleu [APPLEBY et SCHWARZ, 1969], en rouge [NALEWAY et al., 1979].

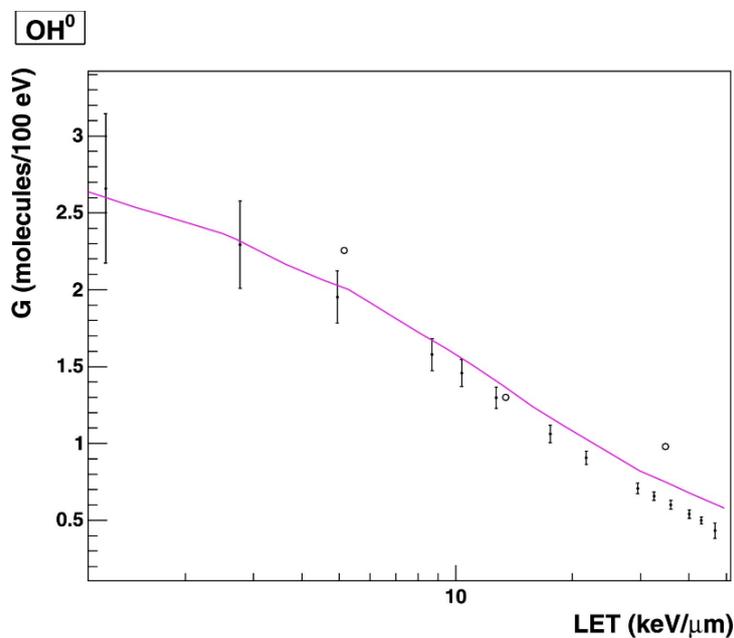


Figure 2.12 : Rendements des OH^\bullet à 1 μ s en fonction de différents TEL de protons [KARAMITROS et al., 2014]. Les points avec les barres d'erreur correspondent aux résultats obtenus avec Geant4-DNA [KARAMITROS et al., 2014]. La courbe rose correspond aux résultats simulés par Kreipl et al. [KREIPL et al., 2009]. Les cercles noirs correspondent aux données expérimentales [BURNS et SIMS, 1981].

2.3 Simulation des dommages à l'ADN avec Geant4-DNA

Dans ce travail de thèse, toutes les simulations portant sur les noyaux cellulaires incluant les géométries d'ADN ont été simulées avec une chaîne de calcul basée sur Geant4-DNA. Cette chaîne de calcul a été initialement développée lors de la thèse précédente [MEYLAN, 2016] et utilise une version modifiée du code source Geant4 10.1.p02 afin de pouvoir simuler les étapes physique, physico-chimique et chimique suivant une irradiation. Après avoir exposé les validations de la physique et de la chimie de Geant4-DNA, nous allons maintenant présenter en détail la chaîne de calcul.

La chaîne de calcul est caractérisée par l'existence de modules permettant d'effectuer la simulation complète. Les quatre principaux modules sont les suivants :

- **phys_geo**, qui permet la simulation de l'étape physique.
- **extractcheminput** qui extrait les données issues de l'étape physique et nécessaires aux étapes physico-chimique et chimique. Ce module permet également de réintroduire les géométries d'ADN sous la forme de molécules pour leur prise en compte lors de la simulation de l'étape chimique.
- **chem_geo** qui effectue la simulation des étapes physico-chimique et chimique.
- **analyse** qui calcule le nombre de dommages à l'ADN provenant de l'étape physique (dommages directs) et de l'étape chimique (dommages indirects).

Un schéma simplifié du déroulement de la chaîne de calcul est présenté dans la figure 2.13.

2.3.1 Module Physique : phys_geo

Le module **phys_geo** de la chaîne de calcul utilise la *physics list G4EmDNAPhysics*, présentée en détail dans la section 2.2.1 de ce chapitre. Pour rappel, cette *physics list* permet de simuler les différents processus d'interaction des électrons comme l'ionisation, l'excitation électronique, la diffusion élastique, l'excitation vibrationnelle et l'attachement dissociatif. En ce qui concerne les protons et les particules alphas, les processus d'ionisation, d'excitation et d'échange de charge sont considérés. Notons également que toutes les simulations sont effectuées en ne considérant que l'eau liquide comme matériau.

2.3.1.1 Prise en compte des géométries

La simulation de l'étape physique s'effectue sur la géométrie du noyau entier. Comme mentionné dans la partie précédente, les géométries générées à partir de DnaFabric peuvent être exportées vers la chaîne de calcul. Les fichiers *.fab2g4dna* du noyau ainsi que des différents types de voxels sont lus par le biais d'une classe *PhysGeoImport* qui permet leur création dans Geant4 via la classe *DetectorConstruction* contenant la définition de la géométrie associée à la simulation. La lecture du

fichier du noyau permet de construire le noyau au sein de la simulation en prenant en compte sa taille et sa forme ainsi que le type et les positions de tous les voxels présents dans celui-ci. Un aperçu du fichier descriptif du noyau est représenté dans la figure 2.14.

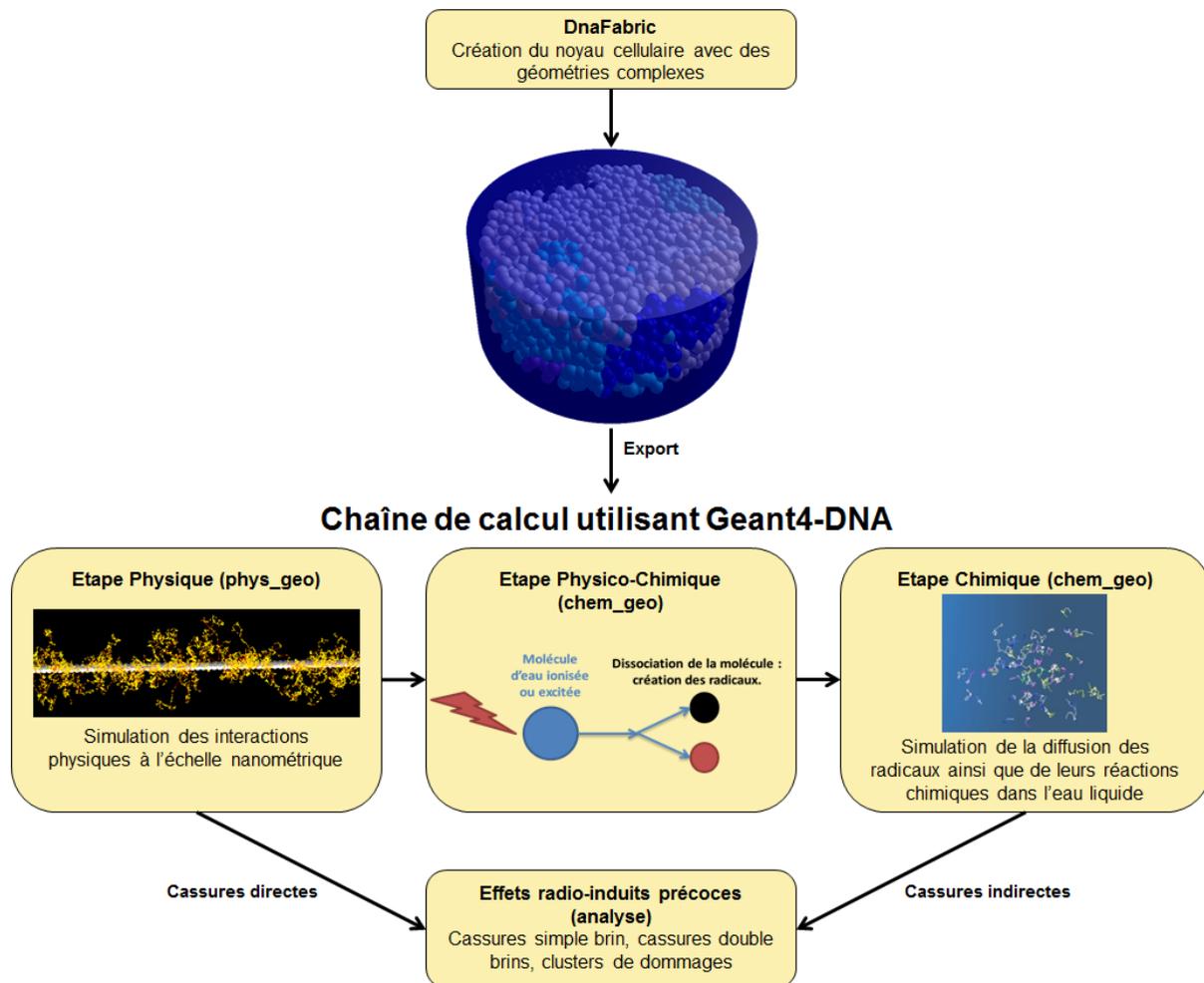


Figure 2.13 : Architecture simplifiée de la chaîne de calcul utilisant Geant4-DNA (version 10.1.p02).

L'importation des fichiers descriptifs de chaque voxel permet quant à elle, de définir leur taille et de charger la dimension et les positions de tous les éléments présents dans chacun d'eux à savoir la position de chaque histone et de chaque molécule d'ADN (2-désoxyribose, phosphate, bases de l'ADN) comme le montre la figure 2.15. Le placement des voxels se fait au moyen d'une paramétrisation des volumes par Geant4. Néanmoins, cette dernière n'est valable que pour un volume unique dans le cas d'une simulation non parallélisée. Des modifications concernant la classe *G4VPhysicalVolume* de Geant4 ont alors été effectuées lors de la conception de *phys_geo* [MEYLAN, 2016] afin d'offrir la capacité de paramétriser en une seule fois plusieurs volumes correspondant aux cinq types de voxels et de permettre la combinaison de la simulation en parallèle avec la paramétrisation de volumes différents.

```
# This a fab2g4 file generated by the Fabric software in order for it to be imported within a Geant4 simulation.
_Version 1
# World description
# Voxel placements
# name, x (nm), y (nm), z (nm)
_Type Ellipsoid 9850 7100 2500

_pl VoxelLeft 0 0 1900 -5100 -1000
_pl VoxelStraight 0 0 1950 -5100 -1000
_pl VoxelStraight 0 0 2000 -5100 -1000
_pl VoxelStraight 0 0 2050 -5100 -1000
_pl VoxelStraight 0 0 2100 -5100 -1000
_pl VoxelRight 0 0 2150 -5100 -1000
_pl VoxelStraight 0 0 2150 -5100 -950
_pl VoxelUp 0 2150 -5100 -900
_pl VoxelLeft 0 0 2150 -5050 -900
_pl VoxelStraight 0 0 2200 -5050 -900
_pl VoxelDown 0 0 2250 -5050 -900
_pl VoxelRight 0 0 2250 -5050 -850
_pl VoxelStraight 0 0 2250 -5000 -850
_pl VoxelUp 0 2250 -4950 -850
_pl VoxelLeft 0 0 2300 -4950 -850
_pl VoxelStraight 0 0 2300 -4950 -800
_pl VoxelDown 0 0 2300 -4950 -750
_pl VoxelRight 0 0 2300 -4900 -750
_pl VoxelDown 0 0 2350 -4900 -750
_pl VoxelUp 0 2350 -4900 -800
_pl VoxelLeft 0 0 2400 -4900 -800
_pl VoxelStraight 0 0 2400 -4850 -800
_pl VoxelUp 0 2400 -4800 -800
_pl VoxelRight 0 0 2400 -4800 -750
```

Figure 2.14 : Aperçu du fichier descriptif .fab2g4dna du noyau de fibroblaste incluant les positions (x, y, z) des différents types de voxels contenus.

```
# This a fab2g4 file generated by the Fabric software in order for it to be imported within a Geant4 simulation.
_Version 1
# General informations
_Name VoxelStraight
_Size 50
_Number voxelNucleosome 24
_Number voxelLinker 25
_Number voxelBasePair 4860
# Molecule radius
# molecule name, molecule radius (nm), water radius (nm) if any
_Radius phosphate1 0.27 0.459
_Radius deoxyribose1 0.29 0.493
_Radius base_adenine 0.3 0.51
_Radius base_thymine 0.3 0.51
_Radius base_guanine 0.3 0.51
_Radius base_cytosine 0.3 0.51
_Radius deoxyribose2 0.29 0.493
_Radius phosphate2 0.27 0.459
_Radius histone 2.4 0
# Volume placements
# placement name, material, strand, copy number, x (nm), y (nm), z (nm)
# Start linker placements
_pl phosphate1 homogeneous_dna 1 0 13.2808 -5.66215 -24.8752
_pl deoxyribose1 homogeneous_dna 1 0 12.9369 -5.48553 -24.7628
_pl base_adenine homogeneous_dna 1 0 12.8266 -5.93244 -24.6942
_pl base_thymine homogeneous_dna 2 0 12.2623 -6.18372 -24.6216
_pl deoxyribose2 homogeneous_dna 2 0 11.7495 -6.22843 -24.5267
_pl phosphate2 homogeneous_dna 2 0 11.7501 -6.62229 -24.4223
_pl phosphate1 homogeneous_dna 1 1 12.9292 -5.24376 -24.5386
_pl deoxyribose1 homogeneous_dna 1 1 12.5494 -5.30373 -24.4191
_pl base_guanine homogeneous_dna 1 1 12.7241 -5.73056 -24.3567
```

Figure 2.15 : Aperçu du fichier descriptif .fab2g4dna du voxel « droit », incluant les différents types de molécules, leur matériau, le brin auquel ils appartiennent (strand), leur identifiant (copy number) et leur position (x, y, z).

A ce stade, la géométrie complète du noyau cellulaire avec tout le contenu génomique présent est construite dans Geant4.

2.3.1.2 Déroulement de la simulation de la partie physique

Dès lors que la création des géométries dans Geant4 est effectuée, les projectiles sont générés afin de simuler l'irradiation du noyau. Le nombre, le type de particule, leur énergie ainsi que leur distribution spatiale sont définis dans la classe *PrimaryGeneratorAction*. Au cours de la simulation, plusieurs informations sont enregistrées dans un fichier de sortie (ntuple), au niveau de la classe *SteppingAction* qui permet de collecter les données à enregistrer après chaque interaction individuelle des particules. Elles concernent principalement les interactions entre les particules incidentes et les molécules cible d'ADN : 2-désoxyribose, phosphate, adénine, cytosine, guanine, thymine et la couche d'hydratation. Les informations les plus importantes correspondent aux énergies déposées par ionisation ou excitation (électronique ou vibrationnelle) dans chacun des volumes d'ADN, au nom du volume d'ADN touché, à l'identifiant de la paire de nucléotide associée (copyNumber) et à sa localisation au niveau des brins de l'ADN (brin 1 ou brin 2), ainsi qu'à l'identifiant de la particule primaire responsable de l'interaction grâce à l'eventID. L'eventID correspond au numéro de l'évènement associé et durant cet évènement, toutes les traces créées ont le même eventID. Ces informations sont primordiales pour le calcul des dommages provenant de l'étape physique (Cf. Section 2.3.3) communément appelés dommages directs.

D'autres informations sont nécessaires pour la suite de la simulation comme les positions des électrons solvatés (e^-_{aq}), ainsi que les positions des molécules d'eau excitées ou ionisées produites dans chaque voxel (identifiant et type du voxel). Les molécules d'ADN ayant été ionisées ou excitées durant l'étape physique sont également enregistrées. Comme précédemment, l'eventID est aussi recueilli. Ces données sont enregistrées sous forme de fichier texte de plusieurs kilooctets, dans le but de procéder à la simulation de l'étape physico-chimique et chimique qui a lieu dans le module chem_geo. Un aperçu de ces données est illustré dans la figure 2.16.

```

_eventNum          175
_voxelType         VoxelStraight
_voxelCopyNumber   1578528

# Chemistry input informations
# _input, type, state, electronicLevel, x, y, z, parentTrackID
# type=1 -> water molecule && type=2 -> solvated electron

_input 1          0          1          8.04985          -14.93          -11.8124          1
_input 1          0          1          8.04985          -10.1322         -11.8124          1
_input 1          0          1          8.04985          -9.03299         -11.8124          1
_input 1          0          1          8.04985          -3.72449         -11.8124          1
_input 1          0          2          8.04985          -3.71482         -11.8124          1
_input 1          1          0          8.04985          -1.88642         -11.8124          1
_input 1          0          2          8.04985          0.781513         -11.8124          1
_input 1          0          2          8.04985          6.60451          -11.8124          1
_input 1          0          2          8.04985          7.32201          -11.8124          1
_input 1          0          2          8.04985          10.9335          -11.8124          1
_input 1          0          0          8.04985          11.6263          -11.8124          1
_input 1          0          0          8.04985          16.1471          -11.8124          1
_input 1          0          1          8.04985          19.2273          -11.8124          1
_input 1          0          2          8.04985          23.4779          -11.8124          1
_input 1          0          0          8.04985          24.805           -11.8124          1
_input 1          0          0          3.28992          24.6881          -11.4377          755
_input 1          0          0          3.195            24.7998          -13.3119          755
_input 2          -1          -1          8.95247          12.0591          -19.38            755
_input 2          -1          -1          1.95251          22.2995          -13.4411          763
_input 1          1          1          4.11064          22.9923          -15.4719          762
_input 2          -1          -1          3.56923          21.507           -14.4552          762
_input 2          -1          -1          14.8001          15.6797          -20.5029          754
_input 2          -1          -1          10.0054          20.2613          -5.18767          752
_input 1          0          0          7.42707          24.0274          -10.4101          751
_input 1          1          2          7.37872          24.7298          -7.74072          751
_input 2          -1          -1          4.2612           9.02732          -6.75223          751
_input 2          -1          -1          5.79932          23.5216          -8.63351          764

```

Figure 2.16 : Aperçu du fichier d'entrée pour l'étape physico-chimique dans la chaîne de calcul contenant les positions (x, y, z) des molécules d'eau ionisées ou excitées ainsi que des électrons solvatés.

2.3.2 Module Chimique : chem_geo

2.3.2.1 Principe de chem_geo

Chem_geo est l'équivalent de phys_geo pour la « chimie ». Ce module permet de simuler les étapes physico-chimique et chimique succédant à l'étape physique. Pour l'étape chimique, la méthode pas-à-pas présenté au chapitre 1 (Cf. Section 1.3.1.1) est appliquée. A la fin de l'étape physique, plusieurs données ont été récoltées comme mentionné dans la section précédente. En particulier, les eventID ainsi que les identifiants des voxels vont être très utiles pour gagner en temps de simulation. En effet, toutes les données issues de la partie physique et servant à l'étape physico-chimique sont classées par évènement et par voxel et lors de l'exécution de chem_geo, chaque fichier évènement/voxel correspond à une simulation qui sera exécutée de manière indépendante par une unité de calcul du cluster utilisé lors de ce travail. Globalement, cette méthode de « pseudo parallélisation » permet un gain important en temps de calcul et en mémoire en évitant de devoir simuler en même temps la création des radicaux libres ainsi que leurs diffusions et réactions dans le noyau complet qui, rappelons-le, contient 6 Gbp soit 36 milliards de molécules.

2.3.2.2 Modifications du code source de Geant4 pour la chimie

Dans le module chimie de Geant4-DNA, les volumes géométriques d'ADN ne sont pas utilisés comme ils pouvaient l'être dans la partie physique. En effet, les volumes géométriques sont par défaut statiques et ne réagissent pas entre eux alors que les molécules dans la chimie se comportent différemment en diffusant et en ayant des taux de réactions. De ce fait, des modifications du code source de la chimie de Geant4.10.1.p02 ont également été effectuées lors de la conception de chem_geo [MEYLAN, 2016]. Similairement à *PhysGeoImport*, une classe *ChemGeoImport* permet d'importer les fichiers *.fab2g4dna* des voxels créés à partir de DnaFabric afin de convertir les géométries d'ADN en molécules d'ADN statiques en appliquant un coefficient de diffusion nul pour spécifier que chaque molécule d'ADN doit être traitée comme tel. Les molécules d'ADN sont introduites dans la simulation via la classe *G4MoleculeGun* de même que les électrons solvatés et les molécules d'eau ionisées ou excitées. Enfin, les molécules d'ADN ionisées ou excitées qui ont été enregistrées dans le fichier d'entrée de la partie physico-chimique sont retirées de la simulation car elles sont considérées comme ne pouvant plus réagir avec les autres molécules. A ce stade, la simulation de l'étape physico-chimique correspondant à la dissociation des molécules d'eau instables et donc, à la création des radicaux libres, peut maintenant être effectuée.

Pour l'étape chimique, la simulation des réactions entre les molécules chimiques, qui sont dynamiques, et les molécules d'ADN, qui sont statiques, a été implémentée. De façon générale, ces modifications ont permis de simuler les réactions entre les radicaux libres et les molécules d'ADN en plus de la possibilité déjà présente dans Geant4-DNA de simuler la radiolyse de l'eau. Le module chimique de la chaîne de calcul prend en compte ces réactions chimiques présentes par défaut dans Geant4-DNA et ces réactions sont listées dans le tableau 2.5a.

2.3.2.3 Modifications et ajouts des réactions chimiques

Initialement dans ce module, les réactions implémentées dans la thèse de [MEYLAN, 2016] (tableau 2.5b) incluaient les réactions entre les radicaux OH• créés et les bases de l'ADN ou le 2-désoxyribose. Dans ce travail de thèse, de nouvelles réactions ont été considérées (tableau 2.5b) comme effectué dans les travaux de Lampe et al. [LAMPE et al., 2018]. Il s'agit des réactions entre les bases de l'ADN ou le 2-désoxyribose et les électrons solvatés (e^-_{aq}) ainsi que le radical hydrogène H•. En effet, comme indiqué dans le tableau 2.5a, plusieurs réactions impliquent le radical H• et les e^-_{aq} . Or, ces derniers peuvent également réagir avec les bases de l'ADN et le 2-désoxyribose. Il est donc judicieux de prendre en compte dans la simulation ces types de réaction. De plus, les taux de réactions entre les OH• et l'ADN ont été modifiés et sont maintenant issus du travail de [BUXTON, 1998], qui ont été repris dans [LAMPE et al., 2018]. Le principal changement réside dans le passage du taux de réaction entre les OH• et le 2-désoxyribose de $2,5 \cdot 10^9 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$ à $1,8 \cdot 10^9 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$. Tous ces changements ont permis une meilleure simulation de la formation de OH• au cours du temps et ainsi l'obtention d'un meilleur ratio entre les dommages directs et indirects. Il est reconnu qu'à faible

TEL, des taux de 35% de dommages directs et de 65% de dommages indirects sont observés [MICHAEL et O'NEILL., 2000]. Notons que certains codes de calculs comme PARTRAC [FRIEDLAND et al., 2003] ont adopté ce ratio. Dans notre cas et malgré ces modifications, nous obtenons un ratio d'environ 30% de directs et 70% d'indirects, ce qui reste légèrement supérieur à ce qui est attendu. Ces différences peuvent provenir des différents paramètres utilisés dans la simulation pour le calcul des dommages que nous verrons dans la section 2.3.3.

Tableau 2.5 : Réactions et taux de réaction utilisés dans la partie chimique de la chaîne de calcul : (a) réactions présentes par défaut dans le module chimie de Geant4-DNA permettant la radiolyse de l'eau ; (b) réactions implémentées dans la thèse de [MEYLAN 2016] permettant les réactions entre les molécules d'ADN et les radicaux OH• ainsi que les réactions implémentées dans ce travail de thèse permettant les réactions entre les molécules d'ADN et les radicaux OH•, e⁻_{aq} et H•.

(a)

Réaction	Taux de réaction (10 ¹⁰ M ⁻¹ s ⁻¹)
$H^{\bullet} + e_{aq}^{-} + H_2O \rightarrow OH^{\bullet} + H_2$	2,65
$H^{\bullet} + OH^{\bullet} \rightarrow H_2O$	1,44
$H^{\bullet} + H^{\bullet} \rightarrow H_2$	1,20
$H_2 + OH^{\bullet} \rightarrow H^{\bullet} + H_2O$	$4,17 \cdot 10^{-3}$
$H_2O_2 + e_{aq}^{-} \rightarrow OH^{\bullet} + OH^{\bullet}$	1,41
$H_3O^{\bullet} + e_{aq}^{-} \rightarrow H^{\bullet} + H_2O$	2,11
$H_3O^{\bullet} + OH^{\bullet} \rightarrow 2H_2O$	14,3
$OH^{\bullet} + e_{aq}^{-} \rightarrow OH^{\bullet}$	2,95
$OH^{\bullet} + OH^{\bullet} \rightarrow H_2O_2$	0,44
$e_{aq}^{-} + e_{aq}^{-} + 2H_2O \rightarrow 2OH^{\bullet} + H_2$	0,50

(b)

Réaction	Taux de réaction chem_geo (10 ⁹ M ⁻¹ s ⁻¹)	
	Version initiale	Cette thèse
2-désoxyribose + OH•	2,50	1,80
Adénine + OH•	6,10	6,10
Guanine + OH•	9,20	9,20
Thymine + OH•	6,40	6,40
Cytosine + OH•	6,10	6,100
2-désoxyribose + e ⁻ _{aq}	-	0,01
Adénine + e ⁻ _{aq}	-	9,00
Guanine + e ⁻ _{aq}	-	14,0
Thymine + e ⁻ _{aq}	-	18,0
Cytosine + e ⁻ _{aq}	-	13,0
2-désoxyribose + H•	-	0,029
Adénine + H•	-	0,10
Thymine + H•	-	0,57
Cytosine + H•	-	0,092

A la fin de l'exécution de la simulation des étapes physico-chimique et chimique (chem_geo), plusieurs informations sont enregistrées. Principalement, les noms et les positions des réactifs ainsi

que des produits sont retenus. Lorsque l'un des réactifs est une molécule d'ADN, le brin d'ADN auquel il appartient (1 ou 2) ainsi que l'identifiant de la paire de nucléotide sont également enregistrés. Ces informations seront nécessaires lors du calcul des dommages indirects provenant de l'étape chimique.

2.3.2.4 Prise en compte du scavenging dans la simulation

Une des particularités parmi toutes les réactions simulées entre les radicaux libres et l'ADN est la réaction entre les radicaux et les histones. En effet, d'un point de vue simulation, toute molécule interagissant avec l'histone est absorbée et ce dernier conserve sa position. L'histone joue alors un rôle que l'on qualifie de « piègeur » (« scavenger ») en protégeant l'ADN des radicaux libres.

L'un des paramètres majeurs dans chem_geo est la durée de la simulation de l'étape chimique. Ce paramètre va déterminer le temps laissé aux radicaux libres pour diffuser et interagir entre eux ou avec les molécules d'ADN. Par défaut, le temps est fixé à 2,5 ns ce qui correspond à une distance de diffusion d'environ 4,5 nm [SAKATA et al., 2019]. Cela permet entre autres, de prendre en compte la capacité de scavenging des protéines non-histones associées à la chromatine qui est beaucoup moins important par rapport à celle des protéines histones mais qui n'est pas non plus négligeable [ELIA et BRADLEY, 1992]. L'influence de ce temps de simulation ainsi que ses limites seront discutés dans le chapitre 3.

2.3.3 Calculs des dommages radio-induits précoces à l'ADN

Le calcul des dommages radio-induits précoces à l'ADN s'effectue dans le module d'analyse précédemment introduit qui prend en compte les données de sortie de phys_geo et de chem_geo. Pour cela, différents paramètres et critères sont utilisés afin de calculer le nombre de dommages à l'ADN à savoir les cassures simples directes et indirectes (SBs) ainsi que les cassures doubles (DSBs).

Dans la chaîne de calcul, une cassure directe est considérée lorsqu'il y a un dépôt d'énergie cumulée d'au moins 17,5 eV provenant d'excitations ou d'ionisations dans le squelette de l'ADN [LOBACHEVSKY et MARTIN, 1996 ; PRISE et al., 2000 ; NIKJOO et al., 2001], c'est-à-dire, dans les volumes du phosphate, du 2-désoxyribose ainsi que de la couche d'hydratation qui est représentée par un volume de 24 molécules d'eau entourant chaque paire de nucléotides. Pour les effets indirects, chaque réaction entre le radical OH• et le 2-désoxyribose a une probabilité de 40% de causer une cassure indirecte. Ceci est dû à la structure de la chaîne d'ADN qui ne permet aux radicaux OH• d'atteindre que 2 des 5 sites réactionnels du 2-désoxyribose [BALASUBRAMANIAN et al., 1998 ; DIZDAROGLU et JARUGA, 2012]. Lorsque tous les SBs sont calculés (directs + indirects), un algorithme de clusterisation est utilisé, DBScan [ESTER et al., 1996], afin de calculer le nombre de DSBs. Un DSB est défini comme un cluster contenant au moins deux cassures simples issues de la même trace de particule, séparés par moins de 10 paires de bases (bp) et situés chacun sur un brin différent de l'ADN. Tout SB séparé

par moins de 10 bp du cluster initial est « mergé » (fusionné) au cluster, augmentant ainsi sa complexité. En ce sens, un DSB simple est défini comme un DSB contenant seulement deux SBs sur des brins opposés, et un DSB complexe comme un cluster contenant plus de deux SBs avec au moins deux SBs sur des brins opposés. Après le passage de l’algorithme de « clusterisation », chaque SB restant est alors considéré comme un « single SB » (SSB). Un schéma explicatif de la définition des dommages à l’ADN dans la chaîne de calcul est illustré dans la figure 2.17.

Lorsque l’exécution du module d’analyse est terminée, nous obtenons un nombre de DSBs par particule primaire incidente. Il est également possible d’obtenir des informations supplémentaires concernant le nombre de SBs directs, le nombre de SBs indirects ainsi que la complexité des DSBs.

Il est intéressant de souligner le fait que l’utilisation de DBScan est propre à la chaîne de calcul et que, de ce fait, la définition des dommages peut différer de celle utilisée par d’autres codes de calculs comme par exemple, le code de calcul PARTRAC [FRIEDLAND et al., 2011] qui n’utilise pas les mêmes méthodes. Afin de pouvoir effectuer des comparaisons avec d’autres codes de calcul ou se baser sur des modèles utilisant une certaine définition des DSBs, il peut être alors intéressant d’appliquer leur définition des DSBs qui dans certains cas, ne nécessite pas d’algorithme de clusterisation comme DBScan. En général pour tous les codes de simulation, lorsque deux SBs issus de la même trace sont situés sur des brins opposés de l’ADN et à moins de 10 bp, ils forment alors un DSB. En revanche et contrairement à la méthode utilisant DBScan, si d’autres SBs sont situés à moins de 10 bp de ce DSB, ils ne seront alors pas inclus dans ce DSB et ne résulteront pas en un DSB complexe comme montré dans la figure 2.18.

Néanmoins, et comme indiqué au chapitre 1, un nouveau standard pour le calcul des dommages à l’ADN (SDD) a récemment été proposé pour simplifier les comparaisons entre les différents codes de calcul [Schuemann et al., 2019] et est actuellement en train d’être introduit dans la chaîne de calcul.

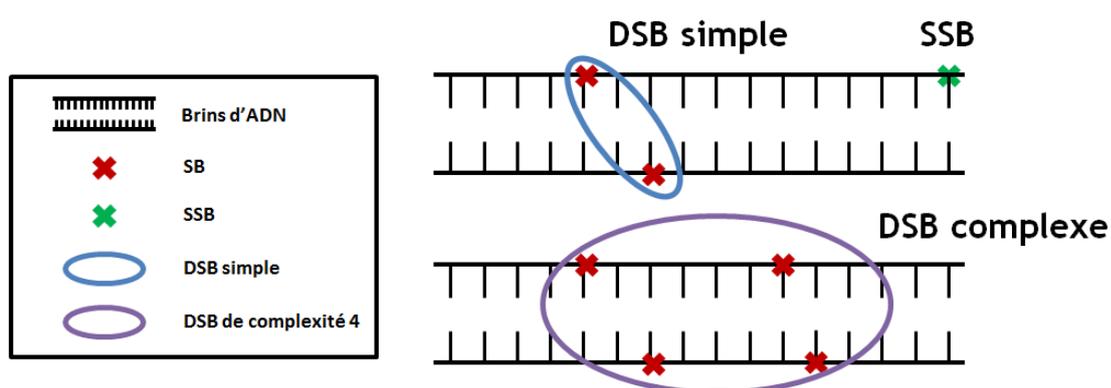


Figure 2.17 : Définition des dommages à l’ADN lors de la simulation.

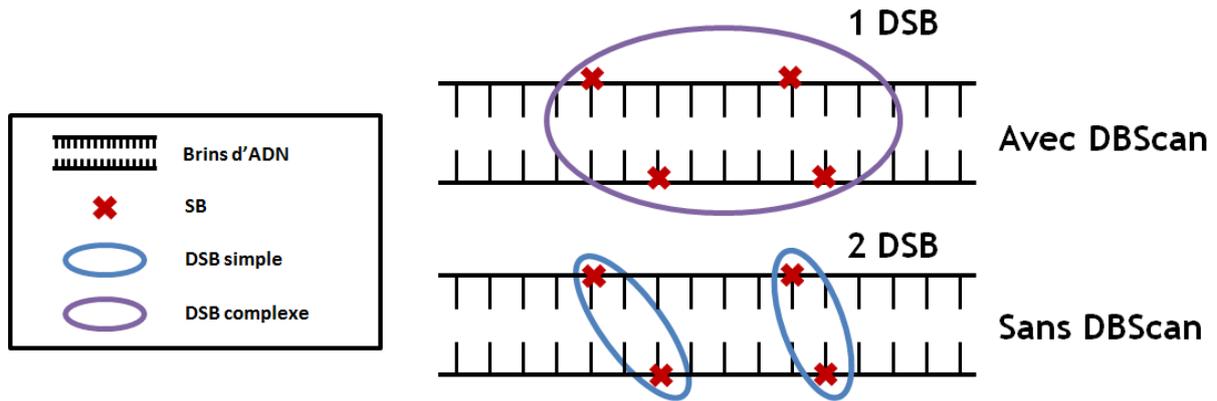


Figure 2.18 : Définitions des DSB avec ou sans l'utilisation de DBScan.

Dans ce travail de thèse une nouvelle routine d'analyse permettant de calculer les DSB à partir de SBs sans la clusterisation de DBScan a été développée ce qui a permis de calculer les fragments d'ADN en se basant sur la méthode de calcul employée dans PARTRAC [FRIEDLAND et KUNDRAT, 2013]. Ce nouveau module permettant de calculer les fragments d'ADN est présenté dans la figure 2.19.

La méthode de calcul des fragments d'ADN basée sur le code de calcul PARTRAC [FRIEDLAND et KUNDRAT, 2013] est la suivante :

1. Lorsque deux SBs sont issus de la même particule primaire et sont situés sur deux brins opposés d'ADN et à moins de 10 bp (**SBcalculation**), alors un **DSB** est enregistré et sa position est donnée par la position moyenne entre les deux SBs (**DSBposition**). Les SBs le composant sont alors retirés de la liste.
2. Si un DSB ou plus se trouvent à moins de 25 bp du DSB considéré, ces DSBs forment un **cluster de DSBs** dont la position est la position moyenne entre les DSBs le composant (**DSBcluster**).
3. Dans le cas contraire, le DSB est défini comme étant un **DSB isolé (DSBisolated)**.
4. Tous les clusters de DSBs ainsi que tous les DSBs isolés forment ce que l'on appelle, les **sites de DSB**.
5. Ensuite, deux sites de DSB distants au maximum de i bp et au minimum de j bp forment un **fragment de DSB** de longueur comprise entre i et j (**DNAFragments**).

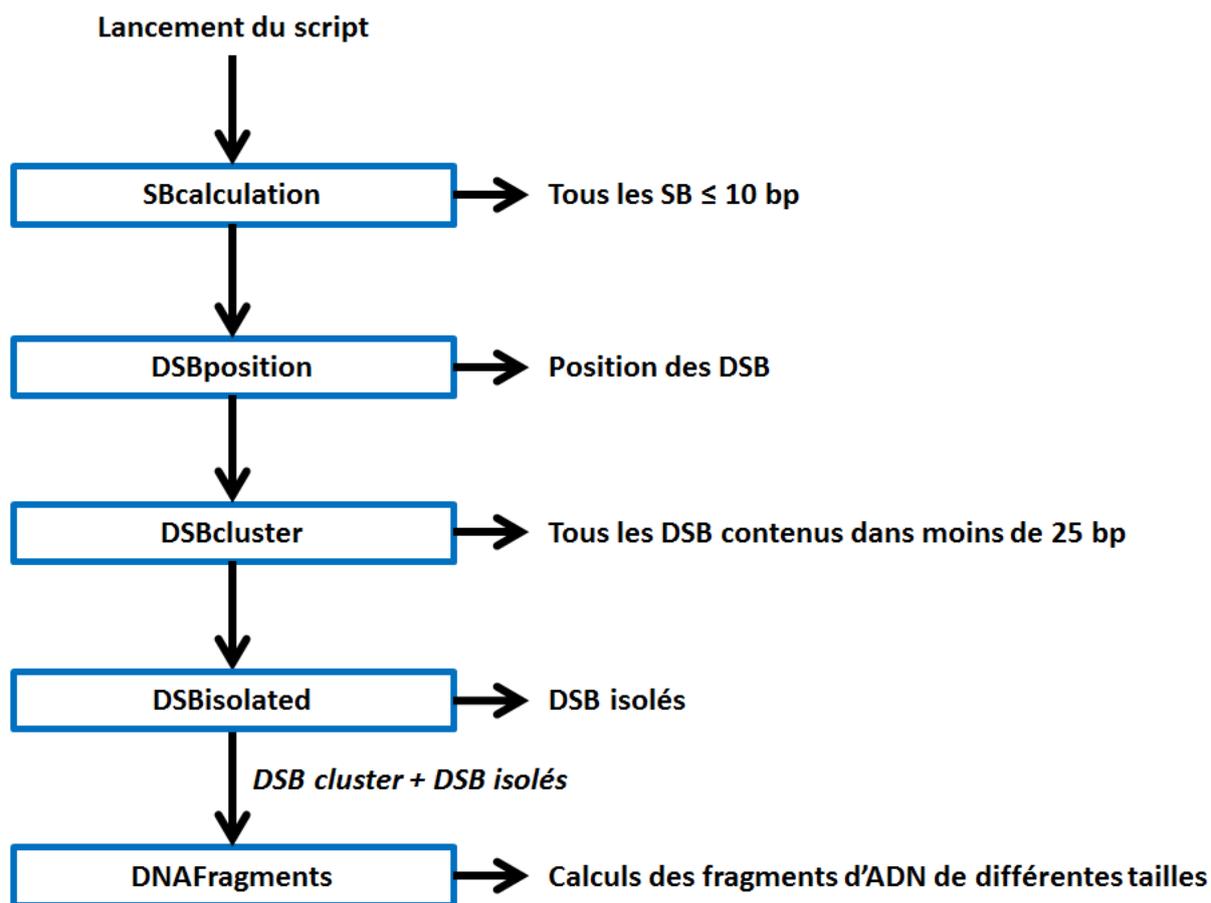


Figure 2.19 : Module d'analyse pour le calcul des fragments d'ADN.

2.4 Configurations de la simulation des irradiations

2.4.1 Configurations spatiales des irradiations

Lors de la simulation de l'irradiation de chaque géométrie de noyau cellulaire, deux types d'irradiation ont été considérés :

- Une irradiation avec des faisceaux parallèles permettant de reproduire les configurations expérimentales *in vitro* avec, comme par exemple, l'utilisation d'un microfaisceau appelé ici, irradiation parallèle (figure 2.20). Les particules sont générées 5 nm au-dessus du noyau dans l'axe des z.

- Une irradiation avec une source de particules générées à partir de la surface du noyau vers l'intérieur de celui-ci avec des directions aléatoires représentant, par exemple, l'irradiation d'une population cellulaire au sein d'un tissu que l'on qualifiera d'irradiation isotropique (figure 2.21).

Notons, dans la configuration correspondant à l'irradiation parallèle, que la surface d'irradiation ne couvre pas la totalité du noyau cellulaire afin d'éviter les effets pouvant être causés par les bords du modèle où la présence d'ADN n'est pas complètement homogène dû à l'algorithme de remplissage utilisé dans DnaFabric [MEYLAN et al., 2017]. De ce fait, la surface de la source de particules est définie comme étant un rectangle de 16 μm x 12 μm pour le fibroblaste, un rectangle de 9 μm x 9 μm pour le lymphocyte et une ellipse ayant un demi-grand axe de 8 μm et un demi-petit axe de 4 μm pour l'endothéliale.

En général, le nombre de dommages est normalisé sous forme de DSB par unité de dose absorbée (Gray) et par Giga paires de bases. Pour cela, le nombre de DSB/Gy/Gbp est calculé selon l'équation suivante :

$$N_{\text{DSB/Gy/Gbp}} = N_{\text{DSB/event}} \cdot \frac{E_{1\text{Gy}}}{\bar{l} \cdot \text{TEL}(E_p) \cdot n} \cdot F \quad (2.2)$$

Avec :

$N_{\text{DSB/event}}$ le nombre de DSB par particule primaire obtenu directement à la fin de la simulation,

$E_{1\text{Gy}}$ l'énergie (en MeV) nécessaire pour obtenir 1 Gy (J/kg) au niveau du noyau,

\bar{l} la distance moyenne parcourue par les particules primaires à travers le noyau pour le type d'irradiation considéré,

$\text{TEL}(E_p)$ le transfert d'énergie linéaire moyen des particules primaires ayant une énergie E_p pour le type d'irradiation considéré et calculé comme expliqué précédemment,

n le nombre de paires de bases contenu dans le noyau exprimé en Gbp,

et F un facteur prenant en compte le fait que la surface d'irradiation est plus petite que la surface totale du noyau et permet donc, de corriger les proportions de volume nucléaire et d'ADN irradiées. Le facteur F est donc le ratio entre le pourcentage de volume nucléaire irradié par rapport au volume entier du noyau et le pourcentage d'ADN irradié par rapport au total de 6 Gbp. Soulignons tout de même que le facteur F n'est introduit que lors d'irradiation avec des faisceaux parallèles et non pas dans le cas d'irradiations isotropiques.

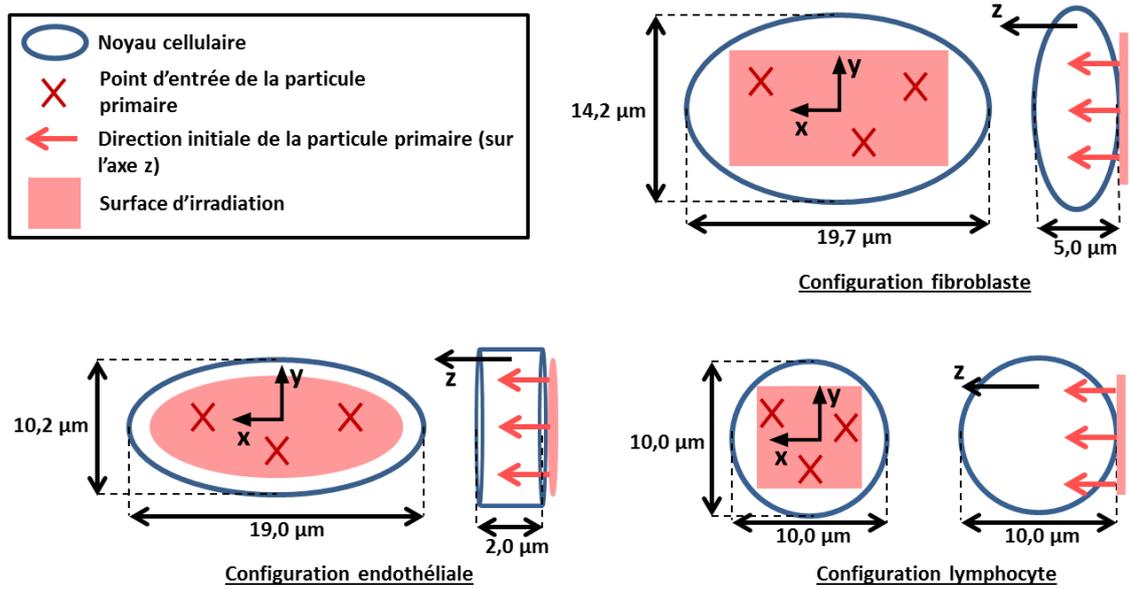


Figure 2.20 : Configuration de l'irradiation parallèle des noyaux de fibroblaste, de lymphocyte et d'endothéliale dans la simulation.

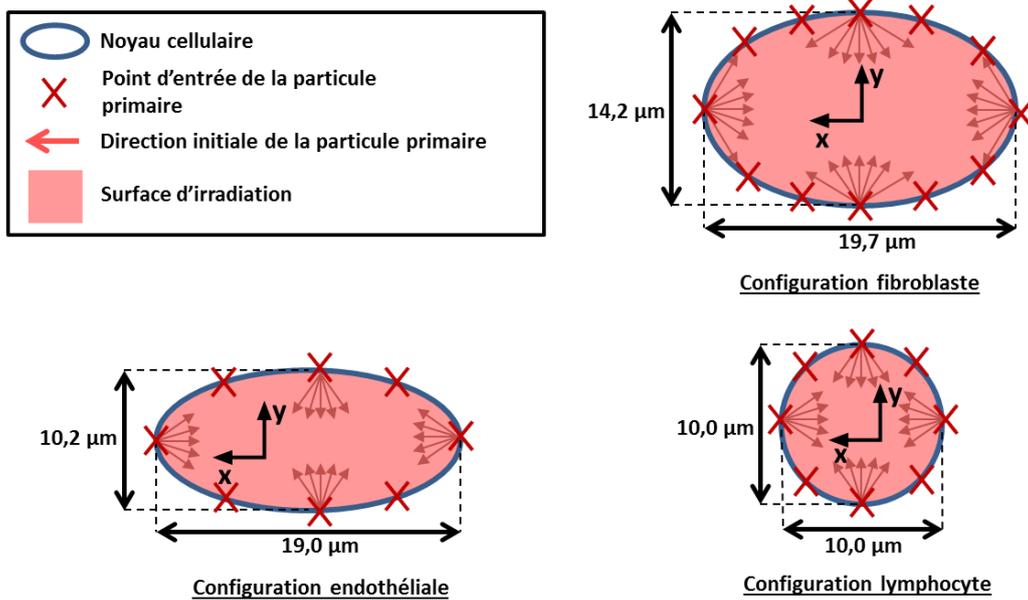


Figure 2.21 : Configuration de l'irradiation isotropique des noyaux de fibroblaste, de lymphocyte et d'endothéliale dans la simulation.

2.4.2 Particularité des simulations photons

Pour les simulations utilisant des photons, il était nécessaire de séparer la simulation en deux afin de pouvoir bien simuler une dose macroscopique respectant l'équilibre électronique et de réduire le

temps de calcul par la génération d'un **espace des phases**. En effet, les photons n'interagissant que très peu avec la matière, il est d'abord nécessaire de s'intéresser à une échelle macroscopique représentant la configuration expérimentale en utilisant une *physics list* adaptée telle que Livermore, permettant le transport des électrons jusqu'à une énergie minimale de 100 eV par défaut ainsi que le transport des photons. Le but de cette première phase est d'enregistrer dans la région d'intérêt un espace des phases, c'est-à-dire la position, la direction ainsi que l'énergie des électrons créés par les photons.

Pour la seconde phase de la simulation, deux approches ont été considérées : une approche microdosimétrique et une approche nanodosimétrique. Ces deux approches et leur utilisation seront détaillées au chapitre 4 de même que les configurations expérimentales. Dans cette partie, les électrons enregistrés dans l'espace des phases sont alors utilisés comme source dans la région d'intérêt en utilisant une *physics list* plus adaptée que Livermore pour la simulation des dépôts d'énergie à l'échelle cellulaire et subcellulaire. Pour l'approche microdosimétrique, la *physics list G4EmDNAPhysics_option2* de l'extension Geant4-DNA (Geant4 version 10.2.p02) qui permet le transport des électrons est utilisée. Pour la nanodosimétrie, les simulations s'effectuent à l'aide de la chaîne de calcul basée sur Geant4-DNA version 10.1.p02 et la *physics list G4EmDNAPhysics* par défaut est appliquée. Pour rappel, ces deux constructeurs permettent de simuler les électrons de la thermalisation jusqu'à 1 MeV.

Le nombre d'électrons figurant dans le fichier de l'espace des phases est très largement supérieur au nombre d'électrons nécessaires dans la deuxième partie de la simulation que ce soit pour l'approche microdosimétrique ou nanodosimétrique. La lecture du fichier s'effectue de façon séquentielle dans la simulation. Lors d'une nouvelle simulation, l'ordre de tous les électrons présents dans le fichier est remanié de manière aléatoire afin d'éviter une quelconque redondance dans la lecture du fichier.

2.5 Conclusions du chapitre

Dans ce chapitre 2, nous avons exposé les outils et méthodes utilisés tout au long de cette thèse. Dans un premier temps, l'application DnaFabric, de la librairie open-source SymVox, a été présentée. DnaFabric permet la génération des modèles géométriques de noyaux cellulaires avec une représentation multi-échelles de l'ADN allant de la paire de nucléotides au génome humain entier. Dans cette thèse, l'implémentation de nouveaux modèles représentant l'euchromatine a été effectuée dans DnaFabric. Ces modèles sont compatibles avec les modèles précédents d'hétérochromatine afin de modéliser de façon plus réaliste les noyaux cellulaires. En effet, il est reconnu dans la littérature que le niveau de compaction de la chromatine peut jouer un rôle quant à l'induction de dommages à l'ADN, à leur réparation mais également aux aberrations chromosomiques.

Ensuite, l'étude de la validité de la physique et de la chimie de Geant4-DNA a été exposée. La validité de la simulation de l'étape physique repose sur la comparaison des modèles implémentés dans Geant4 pour l'eau liquide avec des données expérimentales obtenues, le plus souvent, dans la vapeur d'eau ou des recommandations internationales pour l'eau liquide. La validité de la chimie, quant à elle, se base principalement sur la comparaison du rendement radiochimique G des espèces chimiques avec les données d'autres codes de simulation ou les rares données expérimentales. Globalement, les comparaisons des modèles physiques et chimiques de Geant4-DNA ont montré de bons accords avec les données disponibles.

Enfin, le fonctionnement de la chaîne de calcul basée sur Geant4-DNA a été présenté. Cette chaîne se compose de modules distincts permettant de pouvoir simuler les étapes physique, physico-chimique et chimique survenant après une irradiation. Notamment, dans ce travail de thèse, des modifications et des ajouts ont été effectués au niveau des réactions chimiques considérées entre l'ADN et les radicaux libres, afin d'obtenir une meilleure simulation de l'étape chimique et donc, du calcul des dommages indirects. Par ailleurs, une nouvelle méthode de calcul des dommages a été introduite permettant de calculer les dommages selon les approches employées par d'autres codes de calcul. Cette nouvelle méthode permet entre autres, de calculer les fragments d'ADN issus des différentes cassures de la double hélice et peut également servir de base pour le calcul des effets plus tardifs comme la réparation des DSBs en fonction du temps. Les configurations et les particularités des simulations effectuées lors de cette thèse ont également été introduites. C'est en particulier le cas des simulations traitant des photons, qui nécessitent une simulation en deux étapes (espace des phases) contrairement aux simulations des irradiations protons et alphas.

Il est à noter qu'une nouvelle application nommée ***dnadamage1***, basée sur la chaîne de simulation et considérant la géométrie d'un « voxel droit » d'hétérochromatine de 40 nm (Cf. Section 2.1.2), a été délivrée à la collaboration Geant4 en Juin 2019. Cette application utilise la dernière version actuelle de Geant4 (version 10.5) et intègre donc les derniers modèles physiques et chimiques disponibles [INCERTI et al., 2018 ; SHIN et al., 2019] ainsi que l'évaluation des dommages en utilisant le nouveau standard proposé [SCHUEMANN et al., 2019].

Références

- Appleby, A., et Schwarz, H. A. (1969). Radical and molecular yields in water irradiated by .gamma.-rays and heavy ions. *The Journal of Physical Chemistry*, 73(6), 1937-1941. <https://doi.org/10.1021/j100726a048>
- Balasubramanian, B., Pogozelski, W. K., et Tullius, T. D. (1998). DNA strand breaking by the hydroxyl radical is governed by the accessible surface areas of the hydrogen atoms of the DNA backbone. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 95(17), 9738-9743.
- Bernal, M. A., Sikansi, D., Cavalcante, F., et al. (2013). An atomistic geometrical model of the B-DNA configuration for DNA-radiation interaction simulations. *Computer Physics Communications*, 184, 2840-2847. <https://doi.org/10.1016/j.cpc.2013.07.015>
- Burns, W. G., et Sims, H. E. (1981). Effect of radiation type in water radiolysis. *Journal of the Chemical Society, Faraday Transactions 1: Physical Chemistry in Condensed Phases*, 77(11), 2803-2813. <https://doi.org/10.1039/F19817702803>
- Buxton, G. V., Greenstock, C. L., Helman, W. P., et al. (1988). Critical Review of rate constants for reactions of hydrated electrons, hydrogen atoms and hydroxyl radicals ($\cdot\text{OH}/\cdot\text{O}$ in Aqueous Solution). *Journal of Physical and Chemical Reference Data*, 17(2), 513-886. <https://doi.org/10.1063/1.555805>
- Champion, C., Incerti, S., Aouchiche, H., et al. (2009). A free-parameter theoretical model for describing the electron elastic scattering in water in the Geant4 toolkit. *Radiation Physics and Chemistry*, 78(9), 745-750. <https://doi.org/10.1016/j.radphyschem.2009.03.079>
- Cremer, T., et Cremer, C. (2001). Chromosome territories, nuclear architecture and gene regulation in mammalian cells. *Nature Reviews. Genetics*, 2(4), 292-301. <https://doi.org/10.1038/35066075>
- Dizdaroglu, M., et Jaruga, P. (2012). Mechanisms of free radical-induced damage to DNA. *Free Radical Research*, 46(4), 382-419. <https://doi.org/10.3109/10715762.2011.653969>
- Elia, M. C., et Bradley, M. O. (1992). Influence of Chromatin Structure on the Induction of DNA Double Strand Breaks by Ionizing Radiation. *Cancer Research*, 52(6), 1580-1586.
- Ester, M., Kriegel, H.-P., Sander, J., et al. (1996). A Density-based Algorithm for Discovering Clusters a Density-based Algorithm for Discovering Clusters in Large Spatial Databases with Noise. In *Proceedings of the Second International Conference on Knowledge Discovery and Data Mining* (p. 226-231). Portland, Oregon: AAAI Press.
- Friedland, W., Dingfelder, M., Kunderát, P., et al. (2011). Track structures, DNA targets and radiation effects in the biophysical Monte Carlo simulation code PARTRAC. *Mutation Research*, 711(1-2), 28-40. <https://doi.org/10.1016/j.mrfmmm.2011.01.003>
- Friedland, W., Jacob, P., Bernhardt, P., et al. (2003). Simulation of DNA Damage after Proton Irradiation. *Radiation Research*, 159(3), 401-410. [https://doi.org/10.1667/0033-7587\(2003\)159\[0401:SODDAP\]2.0.CO;2](https://doi.org/10.1667/0033-7587(2003)159[0401:SODDAP]2.0.CO;2)
- Friedland, W., et Kunderát, P. (2013). Track structure based modelling of chromosome aberrations after photon and alpha-particle irradiation. *Mutation Research/Genetic Toxicology and*

- Environmental Mutagenesis*, 756(1), 213-223.
<https://doi.org/10.1016/j.mrgentox.2013.06.013>
- Incerti, S., Ivanchenko, A., Karamitros, M., et al. (2010). Comparison of GEANT4 very low energy cross section models with experimental data in water. *Medical Physics*, 37(9), 4692-4708.
<https://doi.org/10.1118/1.3476457>
- Incerti, S., Kyriakou, I., Bernal, M. A., et al. (2018). Geant4-DNA example applications for track structure simulations in liquid water: A report from the Geant4-DNA Project. *Medical Physics*, 45(8), e722-e739. <https://doi.org/10.1002/mp.13048>
- Karamitros, M., Luan, S., Bernal, M. A., et al. (2014). Diffusion-controlled reactions modeling in Geant4-DNA. *Journal of Computational Physics*, 274, 841-882.
<https://doi.org/10.1016/j.jcp.2014.06.011>
- Kreipl, M. S., Friedland, W., et Paretzke, H. G. (2009). Time- and space-resolved Monte Carlo study of water radiolysis for photon, electron and ion irradiation. *Radiation and Environmental Biophysics*, 48(1), 11. <https://doi.org/10.1007/s00411-008-0194-8>
- Kreth, G., Finsterle, J., von Hase, J., et al. (2004). Radial arrangement of chromosome territories in human cell nuclei: a computer model approach based on gene density indicates a probabilistic global positioning code. *Biophysical Journal*, 86(5), 2803-2812.
[https://doi.org/10.1016/S0006-3495\(04\)74333-7](https://doi.org/10.1016/S0006-3495(04)74333-7)
- Lampe, N., Karamitros, M., Breton, V., et al. (2018). Mechanistic DNA damage simulations in Geant4-DNA Part 2: Electron and proton damage in a bacterial cell. *Physica Medica: PM: An International Journal Devoted to the Applications of Physics to Medicine and Biology: Official Journal of the Italian Association of Biomedical Physics (AIFB)*, 48, 146-155.
<https://doi.org/10.1016/j.ejmp.2017.12.008>
- Lobachevsky, P. N., et Martin, R. F. (1996). DNA strand breakage by 125I-decay in a synthetic oligodeoxynucleotide--2. Quantitative analysis of fragment distribution. *Acta Oncologica (Stockholm, Sweden)*, 35(7), 809-815.
- Meylan, S. (2016). *Développement d'un outil de simulation multi-échelles adapté au calcul des dommages radio-induits précoces dans des cellules exposées à des irradiations d'ions légers (proton et alpha)* (Thèse). Université Bordeaux.
- Meylan, S., Incerti, S., Karamitros, M., et al. (2017). Simulation of early DNA damage after the irradiation of a fibroblast cell nucleus using Geant4-DNA. *Scientific Reports*, 7(1), 11923.
<https://doi.org/10.1038/s41598-017-11851-4>
- Michael, B. D., et O'Neill, P. (2000). Molecular biology. A sting in the tail of electron tracks. *Science (New York, N.Y.)*, 287(5458), 1603-1604.
- Naleway, C. A., Sauer, M. C., Jonah, C. D., et al. (1979). Theoretical Analysis of the LET Dependence of Transient Yields Observed in Pulse Radiolysis with Ion Beams. *Radiation Research*, 77(1), 47-61. <https://doi.org/10.2307/3575076>
- Nikjoo, H., O'Neill, P., Wilson, W. E., et al. (2001). Computational approach for determining the spectrum of DNA damage induced by ionizing radiation. *Radiation Research*, 156(5 Pt 2), 577-583.

- Prise, K. M., Folkard, M., Michael, B. D., et al. (2000). Critical energies for SSB and DSB induction in plasmid DNA by low-energy photons: action spectra for strand-break induction in plasmid DNA irradiated in vacuum. *International Journal of Radiation Biology*, 76(7), 881-890.
- Sakata, D., Lampe, N., Karamitros, M., et al. (2019). Evaluation of early radiation DNA damage in a fractal cell nucleus model using Geant4-DNA. *Physica Medica*, 62, 152-157.
<https://doi.org/10.1016/j.ejmp.2019.04.010>
- Schuemann, J., McNamara, A. L., Warmenhoven, J. W., et al. (2019). A New Standard DNA Damage (SDD) Data Format. *Radiation Research*, 191(1), 76-92. <https://doi.org/10.1667/RR15209.1>
- Shin, W. G., Ramos-Mendez, J., Faddegon, B., et al. (2019). Evaluation of the influence of physical and chemical parameters on water radiolysis simulations under MeV electron irradiation using Geant4-DNA. *Journal of Applied Physics*, (soumis).
- Tang, N., Bueno, M., Meylan, S., et al. (2019). Influence of chromatin compaction on simulated early radiation-induced DNA damage using Geant4-DNA. *Medical Physics*, 46(3), 1501-1511.
<https://doi.org/10.1002/mp.13405>
- Venkatesh, P., Panyutin, I. V., Remeeva, E., et al. (2016). Effect of Chromatin Structure on the Extent and Distribution of DNA Double Strand Breaks Produced by Ionizing Radiation; Comparative Study of hESC and Differentiated Cells Lines. *International Journal of Molecular Sciences*, 17(1).
<https://doi.org/10.3390/ijms17010058>
- Villagrasa, C., Bordage, M.-C., Bueno, M., et al. (2019). Assessing the contribution of cross-sections to the uncertainty of Monte Carlo calculations in micro- and nanodosimetry. *Radiation Protection Dosimetry*, 183(1-2), 11-16. <https://doi.org/10.1093/rpd/ncy240>

Chapitre 3 - Influence du rapport du volume de l'ADN nucléaire sur le volume du noyau cellulaire et du niveau de compaction de la chromatine sur les dommages radio-induits précoces à l'ADN

Sommaire

3.1 Echelle microscopique : effet du rapport du volume de l'ADN nucléaire sur le volume du noyau cellulaire sur l'induction des dommages dans des noyaux cellulaires avec différents volumes ..	107
3.1.1 Nombre de DSB par particule primaire par μm parcouru	109
3.1.2 Nombre de DSB par Gray par Gbp.....	111
3.1.3 Comparaison des dommages issus des irradiations protons et alphas	113
3.2 Calculs et comparaison des fragments d'ADN après irradiation	114
3.3 Influence à l'échelle nanométrique : effet de la compaction de la chromatine sur les dommages à l'ADN.....	116
3.3.1 Comparaison des proportions des cassures directes et indirectes et de la complexité des DSBs entre l'hétérochromatine et l'euchromatine	116
3.3.2 Influence de la durée de la simulation de l'étape chimique.....	124
3.4 Conclusions du chapitre	127
Références	129

Le corps humain comporte environ 100 000 milliards de cellules diverses présentant des différences d'un point de vue morphologique et fonctionnel. Parmi elles, environ 300 types sont identifiés. Chaque cellule humaine possède en son noyau le même contenu génomique, à savoir environ 6 Giga paires de bases (Gbp), sauf quelques exceptions comme les cellules sexuelles ou les globules rouges. Cela représente environ 2 mètres d'ADN par noyau cellulaire. On imagine alors la puissance du mécanisme de compaction de l'ADN afin de le contraindre dans des volumes de l'ordre de la centaine de μm^3 . Cependant, la forme et le volume du noyau cellulaire diffèrent selon le type cellulaire. De ce fait, le rapport du volume d'ADN nucléaire sur le volume du noyau cellulaire n'est pas équivalent parmi les différents types de noyaux cellulaires notamment en phase G0/G1 où l'ADN tend à occuper tout le volume du noyau. Ainsi, la question est de savoir si cette différence de rapport peut conduire à des variations au niveau du nombre de dommages à l'ADN par unité de dose reçue à l'échelle du noyau cellulaire. De manière similaire, à l'échelle nanométrique, la chromatine présente deux niveaux de compaction à savoir, hétérochromatine et euchromatine, pouvant mener également à une variation de l'induction des dommages à l'ADN.

Ce chapitre, comprenant trois parties, est consacré à l'étude des dommages radio-induits à l'ADN dans les différentes géométries de noyaux cellulaires générées à partir de DnaFabric et présentées au chapitre 2 (Cf. Section 2.1). Les simulations ont été effectuées pour des protons et des particules alphas en utilisant la chaîne de calcul également présentée au chapitre précédent (Cf. Section 2.3).

Dans la première partie, nous allons tout d'abord nous intéresser à la morphologie du noyau cellulaire et en particulier, à l'influence du rapport du volume d'ADN sur le volume nucléaire. Dans la deuxième partie, les résultats issus des simulations concernant le nombre et la taille des fragments d'ADN résultant des cassures double brins seront comparés avec ceux de la littérature, en particulier ceux obtenus par simulation avec le code de calcul PARTRAC. Enfin, afin d'étudier l'influence de la compaction de la chromatine sur les dommages radio-induits précoces à l'ADN, des géométries spécifiques représentatives de ces deux états ont été générées avec l'application DnaFabric et ont été utilisées dans la chaîne de simulation comme présenté dans le chapitre précédent. Les résultats de ces calculs seront présentés et discutés dans la troisième partie de ce chapitre.

3.1 Echelle microscopique : effet du rapport du volume de l'ADN nucléaire sur le volume du noyau cellulaire sur l'induction des dommages dans des noyaux cellulaires avec différents volumes

L'objectif de cette première étude est d'évaluer l'impact de la géométrie du noyau cellulaire et son volume sur le nombre de dommages radio-induits précoces à l'ADN pour des protons et des alphas de différentes énergies et pour différentes configurations d'irradiation [TANG et al., 2019a]. Pour ce faire, les géométries modélisant les noyaux cellulaires de fibroblastes, lymphocytes et de cellules

endothéliales présentées au chapitre précédent ont été utilisées dans la chaîne de simulation. Rappelons néanmoins que ces noyaux contiennent exclusivement de l'hétérochromatine. Ces trois modèles présentent des différences en termes de forme et de dimension (Cf. Chapitre 2 - tableau 2.1) et donc, du rapport du volume de l'ADN nucléaire sur le volume du noyau cellulaire compte tenu du fait qu'ils contiennent tous les 6 Gbp du génome humain. En effet, les volumes nucléaires du noyau de fibroblaste, du lymphocyte et de l'endothéliale sont de $732,4 \mu\text{m}^3$, $523,6 \mu\text{m}^3$ et $304,4 \mu\text{m}^3$ respectivement. Le rapport entre le volume d'ADN (tous les volumes de 2-désoxyribose, de phosphate et de bases de l'ADN) et le volume du noyau cellulaire, est alors de 0,95% pour le fibroblaste, 1,33% pour le lymphocyte et 2,29% pour l'endothéliale.

Une étude similaire avait été menée précédemment au laboratoire dans le cadre de la thèse de [DOS SANTOS, 2013] sur des noyaux de fibroblastes et de cellules endothéliales en utilisant le modèle du génome présenté au chapitre 1. Cependant les simulations ne portaient que sur l'étape physique. Il a été montré dans cette étude que la quantité de DSBs était plus importante dans l'hétérochromatine que dans l'euchromatine si seulement les effets directs étaient pris en compte.

Grâce aux développements conjoints de DnaFabric et de la chaîne de simulation, il est maintenant possible de simuler les étapes physique, physico-chimique et chimique dans des modèles réalistes de noyaux cellulaires et de pouvoir ainsi, évaluer de nouveau ces différences.

Dans notre étude, les deux types d'irradiation suivants ont été considérés : l'irradiation parallèle et l'irradiation isotropique qui ont été présentées dans la section 2.4 du chapitre 2. Ces deux types d'irradiation ont été simulés dans le but d'évaluer l'influence du parcours de la trace d'une particule au sein du noyau cellulaire. En effet, la distance moyenne \bar{l} parcourue par les particules primaires à travers le noyau lors d'une irradiation parallèle n'est pas représentative de la longueur de corde moyenne dans un espace tridimensionnel (3D). Dans le cas de l'irradiation parallèle, les particules primaires sont générées dans la direction perpendiculaire au support de culture. Or la disposition des noyaux cellulaires reflète leur adhérence au support expérimental. Pour vraiment tenir compte de la géométrie du noyau à l'intérieur d'un tissu irradié, il est alors intéressant d'étudier le nombre de dommages à l'ADN lors d'une irradiation isotropique.

Les simulations des irradiations des différentes géométries de noyaux cellulaires ont été effectuées sur une large gamme de TEL : protons de 20 MeV, 10 MeV, 1 MeV et 0,5 MeV ainsi que alphas de 17,39 MeV, 5,27 MeV et 1,66 MeV. A noter que les énergies particulières des alphas proviennent de travaux précédents incluant des irradiations par microfaisceau [VILLAGRASA et al., 2017]. Pour chaque simulation, 1000 particules primaires ont été générées afin d'obtenir une incertitude statistique toujours inférieure à 10% sur le nombre moyen de DSBs par particule primaire. Le TEL d'un type de particule primaire a été calculé en divisant l'énergie moyenne déposée dans le noyau par les particules primaires lors de la simulation, par la distance moyenne qu'elles ont parcourue dans le noyau. Les différents TEL, calculés par type de particule primaire, pour chaque noyau cellulaire et pour chaque configuration d'irradiation, sont listés dans le tableau 3.1.

Tableau 3.1 : Valeurs des TEL moyens calculés avec Geant4-DNA (10.1.p02) pour chaque type de particule, chaque noyau et pour l'irradiation en configurations parallèle et isotropique.

Irradiation parallèle	Fibroblaste (keV/ μ m)	Lymphocyte (keV/ μ m)	Endothéliale (keV/ μ m)
Protons 20 MeV	2,7	2,7	2,7
Protons 10 MeV	4,6	4,6	4,6
Protons 1 MeV	27,2	28,9	26,5
Protons 0.5 MeV	47,9	59,8	43,2
Alphas 17,39 MeV	32,7	32,8	32,6
Alphas 5,27 MeV	84,7	87,5	83,1
Alphas 1,66 MeV	212,5	196,9	192,9
Irradiation isotropique	Fibroblaste (keV/ μ m)	Lymphocyte (keV/ μ m)	Endothéliale (keV/ μ m)
Protons 20 MeV	2,6	2,7	2,7
Protons 10 MeV	4,6	4,6	4,7
Protons 1 MeV	28,0	27,9	27,2
Protons 0.5 MeV	50,7	51,4	45,8
Alphas 17,39 MeV	32,8	32,7	32,7
Alphas 5,27 MeV	85,9	85,6	84,2
Alphas 1,66 MeV	204,6	200,7	199,6

Dans le tableau 3.1, nous pouvons observer que le TEL d'une particule donnée augmente lorsque son énergie initiale diminue et ce, pour chaque type d'irradiation et dans chacun des noyaux cellulaires. En effet, le TEL étant inversement proportionnel au carré de la vitesse de la particule, lorsque l'énergie cinétique de la particule diminue, sa vitesse diminue et donc, le TEL augmente. Remarquons également que pour une particule et une énergie données, le TEL varie faiblement entre les noyaux mais également entre les irradiations parallèles et isotropiques. En effet, bien que la distance moyenne parcourue par les particules primaires, \bar{l} , est différente entre le fibroblaste, le lymphocyte et l'endothéliale (3,66 μ m, 7,02 μ m et 2,00 μ m respectivement pour l'irradiation parallèle ; 5,81 μ m, 6,67 μ m et 3,05 μ m respectivement pour l'irradiation isotropique), le TEL reste à peu près constant entre les trois noyaux. Effectivement, le pouvoir d'arrêt ne varie que très peu pour les énergies des particules considérées et les distances parcourues dans les noyaux. De ce fait, lorsque la distance parcourue augmente, la quantité d'énergie déposée augmente également de manière quasi proportionnelle résultant ainsi, en un TEL similaire.

3.1.1 Nombre de DSB par particule primaire par μ m parcouru

Les nombres moyens de DSB par particule primaire et par μ m parcouru (DSB/pp/ μ m) sont présentés dans les figures 3.1 et 3.2. Ils ont été simulés pour les différentes particules considérées, pour chaque type de noyau cellulaire et pour les irradiations parallèles ou isotropiques en divisant le nombre moyen de DSB par particule primaire par la distance parcourue moyenne par les particules primaires au sein du noyau, \bar{l} :

$$DSB/pp/\mu m = \frac{N_{DSB/event}}{\bar{I}} \quad (3.1)$$

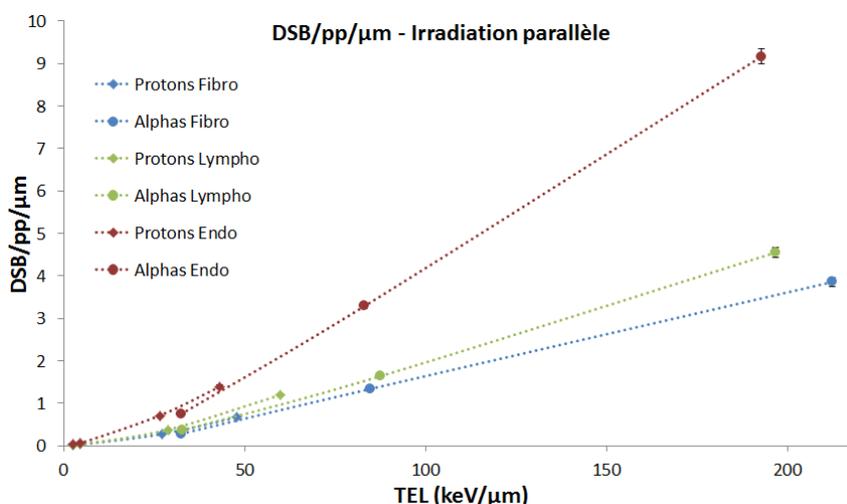


Figure 3.1 : Nombre calculé moyen de DSB/pp/μm en fonction du TEL pour des protons et des alphas dans les noyaux de fibroblaste, lymphocyte et d'endothéliale lors d'une irradiation parallèle. Les barres d'erreurs correspondent à l'écart-type sur le nombre moyen de DSB par particule primaire.

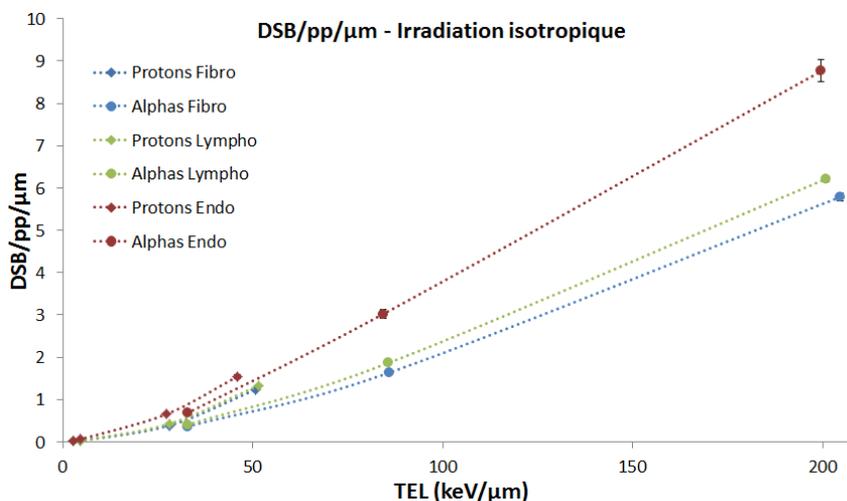


Figure 3.2 : Nombre calculé moyen de DSB/pp/μm en fonction du TEL pour des protons et des alphas dans les noyaux de fibroblaste, lymphocyte et d'endothéliale lors d'une irradiation isotropique. Les barres d'erreurs correspondent à l'écart-type sur le nombre moyen de DSB par particule primaire.

Le nombre de DSB/pp/μm augmente avec le TEL et ce, aussi bien pour les protons que pour les particules alphas. Le nombre de DSB/pp/μm est le plus élevé pour le noyau de cellule endothéliale. Ce nombre est plus faible pour le noyau de lymphocyte et encore plus faible pour le fibroblaste quel

que soit le type d'irradiation et de particule. Cela s'explique par le fait que le noyau de cellule endothéliale présente le plus petit volume, et donc, le plus grand rapport du volume de l'ADN nucléaire sur le volume du noyau cellulaire. Au contraire, celui du fibroblaste, ayant le plus grand volume, a le plus faible rapport. La probabilité pour une trace de la particule primaire de toucher la cible d'ADN est donc plus élevée dans le cas de l'endothéliale comparé au fibroblaste ou au lymphocyte.

Concernant l'influence du type d'irradiation, peu de différences sont observables entre l'irradiation parallèle et l'irradiation isotropique. En effet, la distance moyenne parcourue par les particules primaires est en général plus grande dans le cas isotropique que dans le cas parallèle, d'un facteur 1,5 et 1,6 pour le fibroblaste et l'endothéliale, respectivement. Ce n'est pas le cas du lymphocyte où la distance moyenne est légèrement inférieure en isotropique (6,67 μm en isotropique et 7,02 μm en parallèle). De ce fait, lorsque l'on calcule les DSB/pp/ μm , on s'attendrait à une diminution du nombre de DSB/pp/ μm en irradiation isotropique dû au parcours plus élevé des particules mais dont l'effet est plus ou moins compensé par l'augmentation de l'énergie déposée par les particules primaires en fin de parcours et donc, *in fine*, des DSBs.

3.1.2 Nombre de DSB par Gray par Gbp

Les nombres moyens de DSB/Gy/Gbp ont également été calculés pour les trois modèles de noyaux en irradiation parallèle et isotropique par des protons et des alphas. Les résultats sont représentés dans les figures 3.3 (irradiation parallèle) et 3.4 (irradiation isotropique). Les résultats ont été notamment comparés aux données simulées de PARTRAC [FRIEDLAND et al., 2003] et à des données expérimentales de la littérature [FRANKENBERG et al., 1999]. Dans tous les cas, les données correspondent à une irradiation parallèle de cellules de type fibroblaste. Ces comparaisons sont représentées dans la figure 3.3. Pour rappel, le nombre de DSB/Gy/Gbp est calculé selon l'équation suivante (Cf. Chapitre 2 - Section 2.4.1 - Equation 2.2) :

$$N_{\text{DSB/Gy/Gbp}} = N_{\text{DSB/event}} \cdot \frac{E_{1\text{Gy}}}{\bar{l} \cdot \text{TEL}(E_p) \cdot n} \cdot F \quad (3.2)$$

Les valeurs des différents paramètres utilisés dans cette équation sont listées dans le tableau 3.2 pour chaque noyau et pour chaque type d'irradiation. Le facteur F est généralement compris entre 0,9 et 1,1.

Tableau 3.2 : Paramètres calculés pour chaque type de noyau cellulaire.

Paramètres	Fibroblaste	Lymphocyte	Endothéliale
$E_{1\text{Gy}}$ (MeV)	4,58	3,27	1,90
\bar{l} parallèle (μm)	3,66	7,02	2,00
\bar{l} isotropique (μm)	5,81	6,67	3,05
n (Gbp)	6	6	6

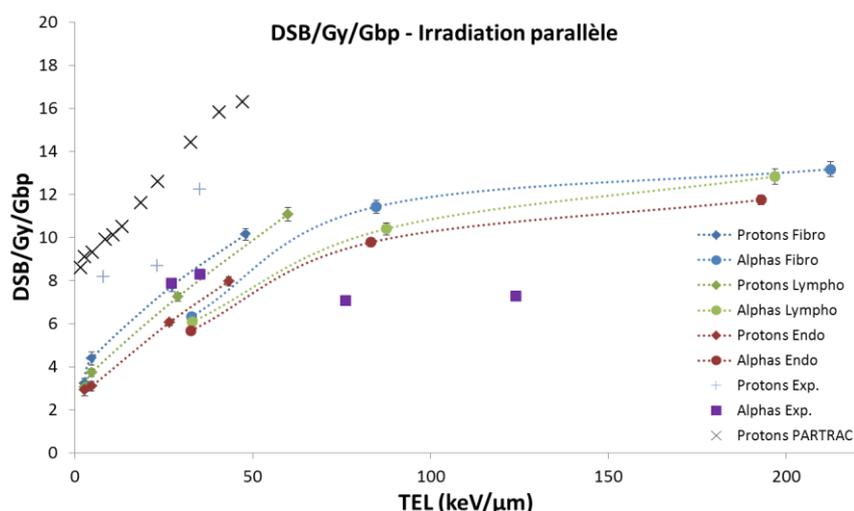


Figure 3.3 : Nombre calculé moyen de DSB/Gy/Gbp en fonction du TEL pour des protons et des alphas dans les noyaux de fibroblaste, lymphocyte et d'endothéliale lors d'une irradiation parallèle. Les barres d'erreurs correspondent à l'écart-type sur le nombre moyen de DSB par particule primaire. Des données simulées du code PARTRAC [FRIEDLAND et al., 2003] ainsi que des données expérimentales issues de la littérature [FRANKENBERG et al., 1999] sont également incluses.

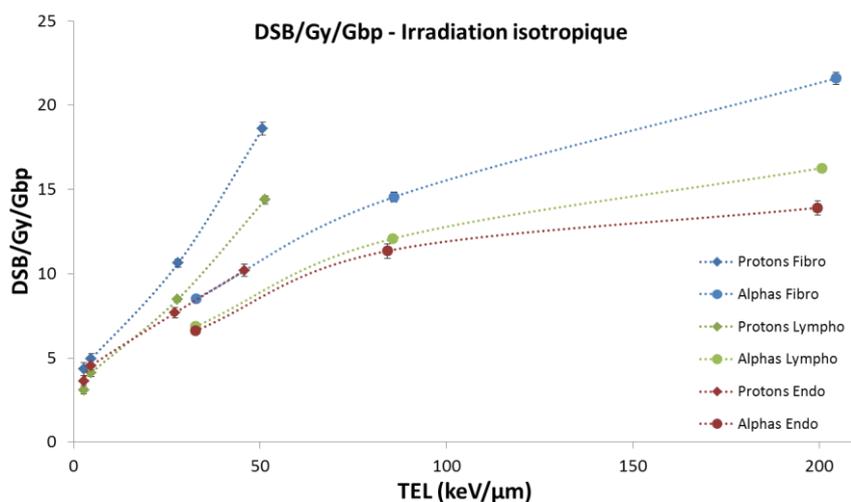


Figure 3.4 : Nombre calculé moyen de DSB/Gy/Gbp en fonction du TEL pour des protons et des alphas dans les noyaux de fibroblaste, lymphocyte et d'endothéliale lors d'une irradiation isotropique. Les barres d'erreurs correspondent à l'écart-type sur le nombre moyen de DSB par particule primaire.

Concernant le nombre de DSB/Gy/Gbp, nous pouvons observer des différences entre les types de noyau cellulaire pour les deux types d'irradiation et les particules considérées. Que ce soit pour les protons ou les alphas, à un même TEL, on retrouve le plus de DSB/Gy/Gbp au niveau du noyau de fibroblaste, le plus volumineux, et le moins de dommage au sein du noyau de cellule endothéliale de volume le plus faible. Cela montre que le volume du noyau cellulaire joue un rôle important dans le

nombre de DSB/Gy/Gbp. De plus, pour les particules alphas, pour des TEL de l'ordre de 200 keV/μm, on observe un début de saturation avec une diminution de la pente de la courbe de DSB/Gy/Gbp. Notons que pour une irradiation isotropique, le nombre de dommages à l'ADN est plus élevé que dans le cas d'une irradiation parallèle.

Nous pouvons également observer dans la figure 3.3 que les résultats simulés dans ce travail sont de manière générale, inférieurs aux données simulées de PARTRAC [FRIEDLAND et al., 2003] ainsi qu'aux données expérimentales de la littérature [FRANKENBERG et al., 1999]. Les résultats de PARTRAC montrent une évolution assez similaire du nombre de DSB/Gy/Gbp pour les TELs de protons considérés à celle des résultats issus de nos simulations. Cependant, le nombre de DSB/Gy/Gbp est supérieur de plus d'un facteur 2 dans PARTRAC par rapport à nos simulations. Cela est principalement dû à la probabilité linéaire de 5 eV à 37,5 eV pour le calcul des SBs directs utilisée dans PARTRAC par rapport au seuil de 17,5 eV dans notre cas, comme indiqué dans la thèse précédente [MEYLAN, 2016]. Dans [FRANKENBERG et al., 1999], des fibroblastes primaires humains ont été exposés à des protons (TEL de 8 à 35 keV/μm) et des alphas (TEL de 27 à 124 keV/μm). On observe dans ces données expérimentales obtenues par électrophorèse en champ pulsé, une augmentation plus prononcée du nombre de DSB/Gy/Gbp pour les TELs entre environ 20 et 35 keV/μm par rapport aux simulations. De plus, pour les alphas de TELs supérieurs à 50 keV/μm, on remarque que le nombre de dommages expérimentaux devient inférieur par rapport aux TELs inférieurs. Cela pourrait s'expliquer par le fait que, dans les expériences de [FRANKENBERG et al., 1999], il y a une perte des fragments d'ADN qui sont difficilement observables par les moyens de détection et que cette perte n'est pas compensée par l'augmentation du nombre de DSBs.

3.1.3 Comparaison des dommages issus des irradiations protons et alphas

De façon générale, pour un même TEL, le nombre de dommages est plus élevé pour une irradiation avec des protons que pour une irradiation avec des alphas. En effet, le TEL est proportionnel à la grandeur $\frac{Z^2}{\beta^2}$, Z étant la charge de la particule incidente et β le ratio entre la vitesse de la particule et la vitesse de la lumière. Ainsi, pour un TEL donné, les particules alphas ($Z=2$) sont plus rapides que les protons ($Z=1$). De ce fait, les particules alphas produisent des électrons secondaires plus énergétiques qui ont donc un libre parcours moyen plus élevé. Cela conduit à des dommages à l'ADN moins « clusterisés » et donc, par extension, à moins de DSBs.

3.2 Calculs et comparaison des fragments d'ADN après irradiation

Le calcul des fragments d'ADN à partir des DSBs pourrait avoir un intérêt dans la prédiction du devenir cellulaire, en particulier des aberrations chromosomiques produites et de la survie cellulaire [ALLONI et al., 2007 ; FRIEDLAND et al., 2017]. Notamment, les fragments de petite taille limiteraient la place disponible pour les protéines de réparation de l'ADN et de ce fait, rendraient moins efficace la réparation des dommages à l'ADN ce qui pourrait entraîner la mort cellulaire [Li et al., 2012]. De plus, les fragments de taille plus importante, i.e. à l'échelle micrométrique, joueraient un rôle majeur dans l'apparition d'aberrations chromosomiques [SCHMID et al., 2012 ; SCHMID et al., 2015]. Il semblerait donc que le nombre de fragments, leur taille ainsi que la distance les séparant aient un impact majeur dans le devenir cellulaire. Ainsi, plusieurs modèles pour évaluer le devenir cellulaire sont basés sur la répartition spatiale des dommages à l'ADN à une échelle nanométrique et/ou microscopique.

La méthode de calcul des fragments d'ADN du code PARTRAC présentée au chapitre précédent (Cf. Chapitre 2 - Section 2.3.3) a été appliquée aux données issues de la chaîne de simulation pour des irradiations parallèles sur le noyau de lymphocyte rempli exclusivement d'hétérochromatine, en utilisant les énergies des protons et des alphas du tableau 3.1. Différentes tailles de fragments sont considérées : 60-100 bp figure 3.5 (a) correspondant à la formation de fragments au sein d'un nucléosome, 0,3-3 kbp figure 3.5 (b) correspondant à la fibre de chromatine, 10-100 kbp figure 3.5 (c) pour une boucle de chromatine et 0,3-3 Mbp figure 3.5 (d) pour un domaine chromosomique.

De manière générale, nous observons une augmentation du nombre de fragments pour les protons et les alphas lorsque le TEL augmente, avec notamment une forte augmentation pour des TEL supérieurs à 30 keV/ μm . Pour les fragments de 60-100 bp, les particules de haut TEL induisent beaucoup plus de fragments de petite taille que ceux à plus faible TEL (de plus d'un facteur 20). En effet, les dommages provoqués sont plus espacés pour ces derniers. Cette augmentation du nombre de fragments de 60-100 bp est continue dans la gamme de TEL considérée, de même que pour les fragments de 0,3-3 kbp. En ce qui concerne les fragments de 10-100 kbp et 0,3-3 Mbp, nous observons une augmentation des fragments pour les protons et les TEL considérés. En revanche, pour les alphas, une saturation apparaît aux alentours de 90 keV/ μm où on observe une diminution pour les TEL supérieurs.

De plus, pour un même TEL, nous avons toujours plus de fragments lors d'une irradiation proton qu'une irradiation alpha du fait que les dommages soient répartis plus proches spatialement pour les protons comme expliqué précédemment dans la section 3.1.

Également, nous pouvons remarquer que les fragments d'ADN de 60-100 bp calculés sont en bon accord avec ceux obtenus dans PARTRAC. En revanche, pour les fragments de 0,3-3 kbp, le nombre de fragments/Gy/Gbp est très inférieur à celui de PARTRAC en particulier à TEL élevé. Enfin, pour

les fragments de 10-100 kbp et de 0,3-3 Mbp, le nombre de fragments est assez similaire bien que restant globalement inférieur à PARTRAC. Nous pouvons aussi remarquer que la saturation du nombre de fragment visible dans PARTRAC pour les alphas aux alentours de 100-200 keV/μm est moins marquée dans nos simulations.

Les différences observées entre les résultats présentés et le code PARTRAC peuvent être expliquées notamment, par les différences entre les modèles géométriques utilisés. D'une part, il est vrai que les géométries de nucléosomes sont assez bien définies dans la littérature et sont donc, similaires entre PARTRAC et DnaFabric, ce qui pourrait expliquer les similitudes des calculs de fragments de 60-100 bp. D'autre part, la fibre de chromatine contenue dans les voxels est différente entre les deux versions, de même que la façon de former les boucles de chromatine et les domaines chromosomiques. Cela pourrait expliquer les différences observées dans les cas (b), (c) et (d). Afin de valider au mieux le calcul des fragments d'ADN, il serait préférable de comparer les résultats issus des simulations avec des données expérimentales. Malheureusement, les limites de technique de détection des fragments d'ADN empêchent la comparaison directe, et ce particulièrement pour les fragments de petite taille [ALLONI et al., 2011]. De plus, Alloni et al. [ALLONI et al., 2011] ont également montré que les données issues de PARTRAC surestimaient en général, le nombre de fragments détectés expérimentalement.

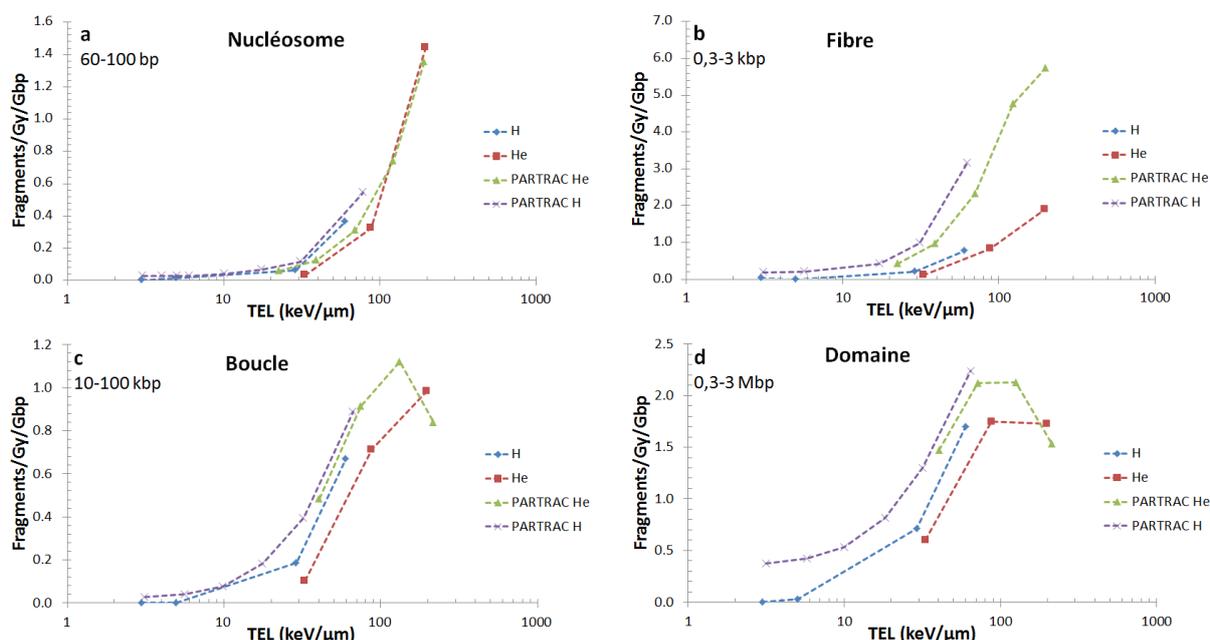


Figure 3.5 : Nombre de fragments d'ADN par Gy et par Gbp en fonction du TEL calculé à partir de la chaîne de simulation et ceux obtenus dans PARTRAC pour différentes tailles : 60-100 bp (a) correspondant à la formation de fragments au sein d'un nucléosome, 0,3-3 kbp (b) correspondant à la fibre de chromatine, 10-100 kbp (c) pour une boucle de chromatine et 0,3-3 Mbp (d) pour un domaine chromosomique.

3.3 Influence à l'échelle nanométrique : effet de la compaction de la chromatine sur les dommages à l'ADN

Dans les études présentées jusqu'à maintenant (incluant la comparaison avec les résultats des simulations publiés par les auteurs du code PARTRAC), les modèles de noyaux cellulaires ne comprenaient qu'un seul des deux niveaux de compaction de l'ADN à savoir le modèle d'hétérochromatine. Cependant, dans la réalité, les noyaux cellulaires de fibroblaste, lymphocyte ou d'endothéliale contiennent de l'hétérochromatine et de l'euchromatine. Or, dans la littérature, des études ont été menées pour étudier l'influence de la compaction de la chromatine sur les dommages à l'ADN. Le niveau de compaction de la chromatine jouerait un rôle quant au nombre de dommages radio-induits à l'ADN, à leur réparation mais aussi à l'apparition d'aberrations chromosomiques [COSTES et al., 2010 ; RADULESCU et al., 2004 ; FALK et al., 2010 ; MAGNANDER et al., 2010]. Il est donc apparu nécessaire d'implémenter un modèle d'euchromatine afin de pouvoir générer des noyaux cellulaires plus réalistes dans le but d'étudier à une échelle nanométrique, l'influence de la compaction sur l'induction des dommages à l'ADN [TANG et al., 2019b]. Dans cette troisième partie de ce chapitre, nous allons donc nous intéresser à la variation, en fonction de la compaction de l'ADN, du nombre des dommages à l'ADN ainsi qu'à leur nature (SB direct ou indirect, DSB simple ou complexe). La géométrie du noyau de fibroblaste rempli exclusivement d'hétérochromatine ou d'euchromatine ainsi que le modèle de noyau d'endothéliale comprenant la distribution de 48% d'hétérochromatine et de 52% d'euchromatine présentés lors du chapitre précédent ont été utilisés.

3.3.1 Comparaison des proportions des cassures directes et indirectes et de la complexité des DSBs entre l'hétérochromatine et l'euchromatine

Les modèles géométriques d'hétérochromatine et d'euchromatine étant différents, il devient intéressant d'en voir les conséquences tant d'un point de vue des cassures directes issues de l'étape physique que des cassures indirectes issues de l'étape chimique. Afin d'évaluer au mieux ces différences à l'échelle du noyau cellulaire, les noyaux de fibroblastes remplis exclusivement d'hétérochromatine ou d'euchromatine ont été utilisés.

Les proportions de cassures directes et indirectes par Gray et par Gbp dans le noyau de fibroblaste, rempli uniquement d'hétérochromatine ou d'euchromatine, sont représentées dans les figures 3.6 et 3.7 pour des irradiations en configuration parallèle avec des protons et des alphas respectivement. Premièrement, les proportions de SB direct et indirect varient en fonction du TEL. En effet, la proportion de SB direct augmente lorsque le TEL augmente tandis que la proportion de SB indirect diminue. A faible TEL, les différences concernant les proportions de SB direct et indirect entre

l'hétérochromatine et l'euchromatine sont faibles. Néanmoins, les incertitudes statistiques sur le nombre moyen de SB/Gy/Gbp étant toujours inférieures à 0,2%, nous pouvons donc affirmer que la proportion de SB direct varie peu avec le TEL ; il en est de même pour les deux compactations de l'ADN. En revanche, ces différences deviennent significatives lorsque le TEL augmente comme nous pouvons le voir dans le tableau 3.3 avec par exemple, une différence relative de 3,8% pour des alphas de 32,7 keV/ μm et une différence relative de 7,3% pour des alphas de 212,5 keV/ μm . Etant donné que l'euchromatine présente une plus faible quantité d'ADN par unité de volume traversé par une particule, une plus faible proportion de SB direct est observée en comparaison avec l'hétérochromatine. Par conséquent, la proportion de SB indirect est plus importante dans les régions d'euchromatine. L'une des autres raisons à l'origine de cette différence est que l'euchromatine, en comparaison avec l'hétérochromatine, est plus « ouverte » et donc plus « hydratée » ce qui donne lieu à la création de plus de radicaux libres. Cela est renforcé par le fait que l'euchromatine possède une concentration moindre d'histones ce qui engendre une protection plus faible vis-à-vis des attaques provoquées par les radicaux libres. En effet, comme mentionné précédemment, les histones agissent comme des « scavengers » au sein du noyau cellulaire protégeant ainsi l'ADN des cassures radio-induites [ELIA et al., 1992].

Dans la simulation, nous avons pris le parti de ne pas modéliser explicitement protéines associées à la chromatine (protéines non-histones) dans nos modèles géométriques pour simuler les différences en piégeage entre l'hétérochromatine et l'euchromatine. En effet, dans la littérature, il a été montré que l'effet « protecteur » de l'hétérochromatine n'était pas dû à la quantité de protéines non-histones, cette quantité étant similaire entre l'hétérochromatine et l'euchromatine, mais plutôt à la concentration de chromatine [TAKATA et al., 2013]. Néanmoins, la capacité de piégeage des protéines non-histones est prise en compte dans la simulation par différents paramètres ou contraintes présentés dans le chapitre 2 (Cf. Section 2.3.2.4) et rappelés ci-dessous :

- les réactions chimiques ne sont simulées que dans chaque voxel : les espèces chimiques ne peuvent pas diffuser au-delà des dimensions du voxel.

- la durée de la simulation de l'étape chimique est limitée à 2,5 ns comme expliqué précédemment.

Remarquons que cette méthode empêche les interactions entre des radicaux formés aux bords d'un voxel avec ceux d'un voxel adjacent. Néanmoins, ces réactions ne contribueraient que très peu au nombre de DSB. En effet, en simulant le nombre moyen de DSB dans quatre voxel « droit » d'hétérochromatine ou bien dans un seul voxel de longueur équivalente pour des alphas de 1,66 MeV (212,5 keV/ μm), les différences en termes de DSBs entre les deux géométries restent inférieures à 1,5%.

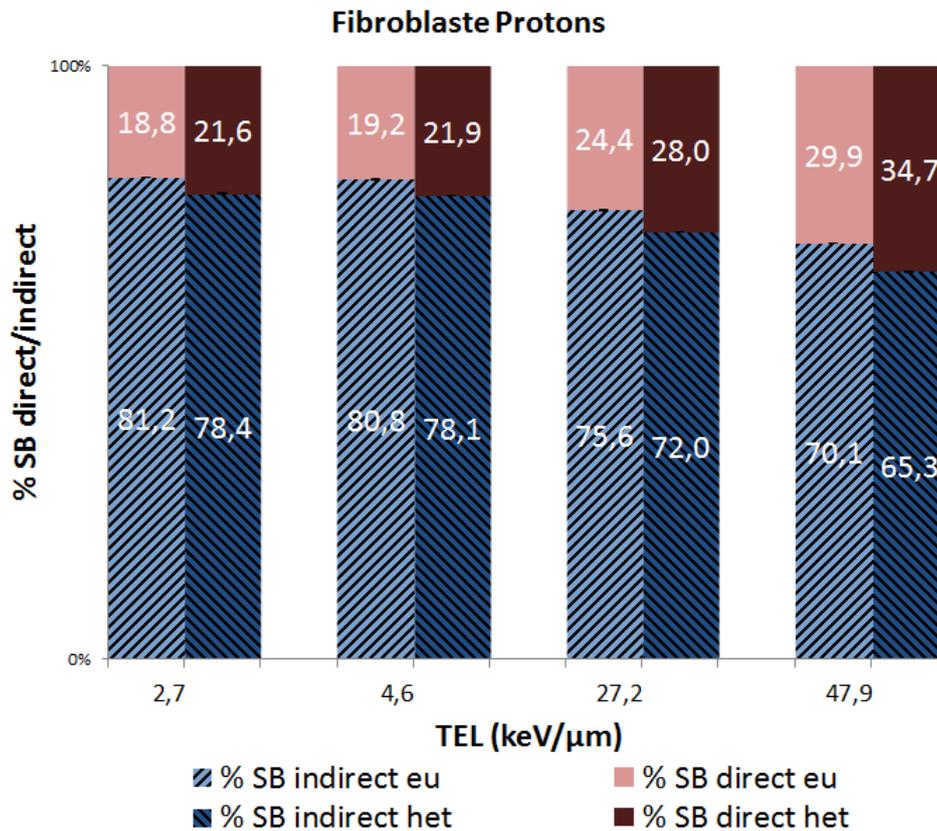


Figure 3.6 : Proportions (en %) de SB direct et indirect par Gy et par Gbp dans le modèle du noyau de fibroblaste rempli exclusivement d'hétérochromatine ou d'euchromatine pour des protons de TEL 2,7, 4,6, 27,2 et 47,9 keV/μm. En bleu : la proportion de SB indirect (bleu foncé pour l'hétérochromatine, bleu clair pour l'euchromatine). En rouge : la proportion de SB direct (rouge foncé pour l'hétérochromatine, rouge clair pour l'euchromatine). Les proportions ont été calculées en divisant le nombre de SB direct ou indirect par Gy et par Gbp par le nombre total de SB par Gy et par Gbp. Les barres d'erreur correspondent à l'écart-type sur le nombre moyen de SB direct ou indirect par Gy et par Gbp.

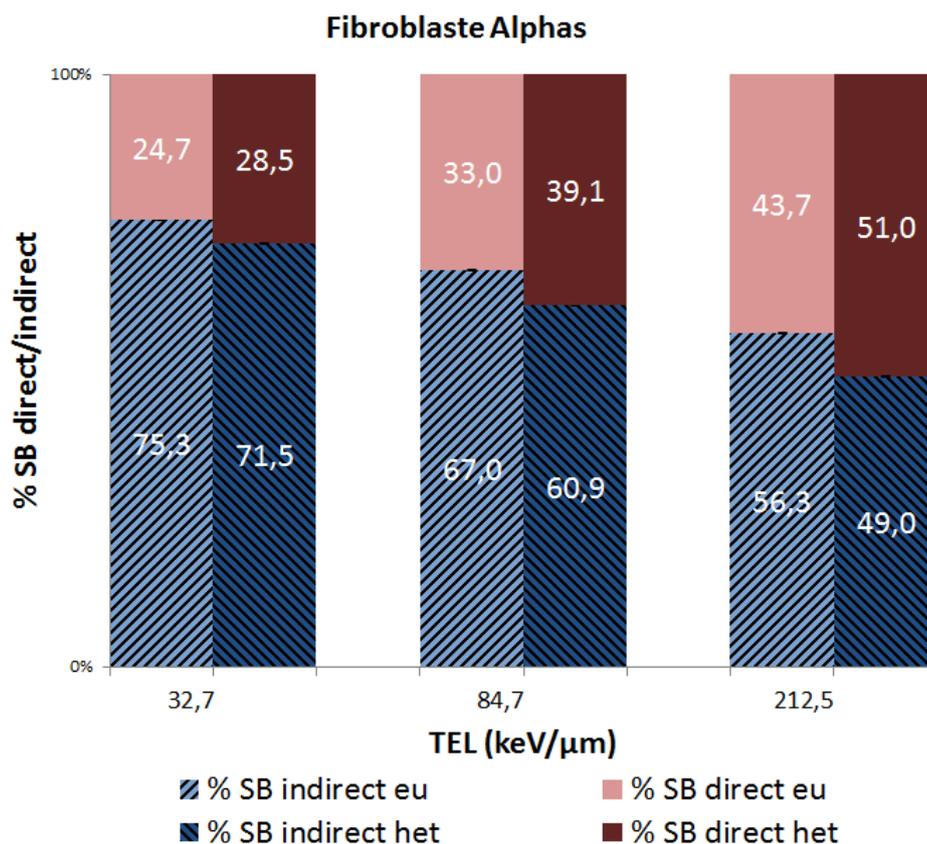


Figure 3.7 : Proportions (en %) de SB direct et indirect par Gy et par Gbp dans le modèle du noyau de fibroblaste rempli exclusivement d'hétérochromatine ou d'euchromatine pour des alphas de TEL 32,7, 84,7 et 212,5 keV/μm. En bleu : la proportion de SB indirect (bleu foncé pour l'hétérochromatine, bleu clair pour l'euchromatine). En rouge : la proportion de SB direct (rouge foncé pour l'hétérochromatine, rouge clair pour l'euchromatine). Les proportions ont été calculées en divisant le nombre de SB direct ou indirect par Gy et par Gbp par le nombre total de SB par Gy et par Gbp. Les barres d'erreur correspondent à l'écart-type sur le nombre moyen de SB direct ou indirect par Gy et par Gbp.

La complexité des DSBs jouant un rôle dans le devenir cellulaire [WARD, 1994], une caractérisation supplémentaire de la complexité des DSBs simulés a été effectuée. Pour la détermination de la complexité des DSBs, l'algorithme de clusterisation DBScan inclus dans la chaîne de calcul a été utilisé, comme expliqué dans le chapitre 2 (Cf. figure 2.17). Ces résultats sont illustrés dans les figures 3.8 et 3.9. Nous pouvons remarquer que les pourcentages de DSB simple et complexe varient également avec le TEL. Par exemple, pour les alphas dont le TEL est de 32,7 keV/μm, 82,1% de DSB simple et 17,9% de DSB complexe sont dénombrés. Pour des TEL plus élevés comme par exemple à 212,5 keV/μm, toujours dans le cas des alphas, ce ratio varie pour atteindre 35,6% de DSB simple et 64,4% de DSB complexe. Remarquons tout de même que cette variation est moins visible à faible TEL notamment à cause des incertitudes statistiques qui sont plus élevées, de l'ordre de $\pm 3\%$. Egalement, nous ne pouvons pas observer de différences concernant la complexité des DSBs entre l'hétérochromatine et l'euchromatine étant donné que les proportions de DSB simple ou complexe

sont similaires entre les deux niveaux de compaction comme cela est montré dans le tableau 3.3 et compte tenu des incertitudes associées.

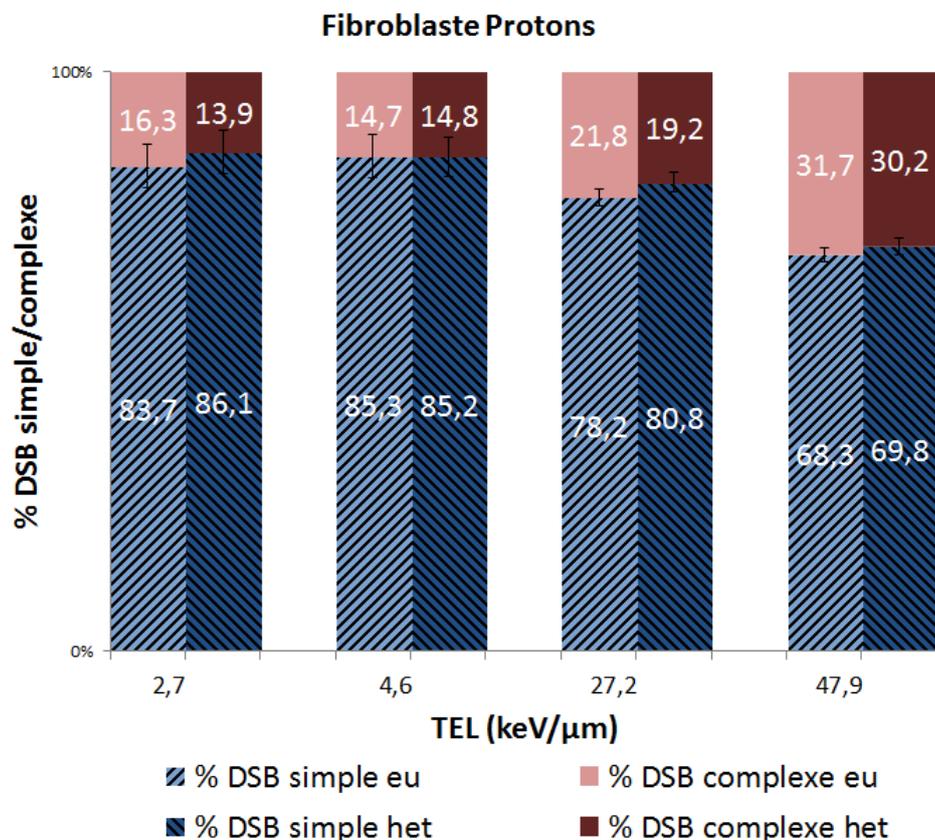


Figure 3.8 : Proportions (en %) de DSB simple et complexe par Gy et par Gbp dans le modèle du noyau de fibroblaste rempli exclusivement d'hétérochromatine ou d'euchromatine pour des protons de TEL 2,7, 4,6, 27,2 et 47,9 keV/μm. En bleu : la proportion de DSB simple (bleu foncé pour l'hétérochromatine, bleu clair pour l'euchromatine). En rouge : la proportion de DSB complexe (rouge foncé pour l'hétérochromatine, rouge clair pour l'euchromatine). Les proportions ont été calculées en divisant le nombre de DSB simple ou complexe par Gy et par Gbp par le nombre total de DSB par Gy et par Gbp. Les barres d'erreur correspondent à l'erreur quadratique moyenne sur le nombre moyen de DSB simple et complexe par Gy et par Gbp.

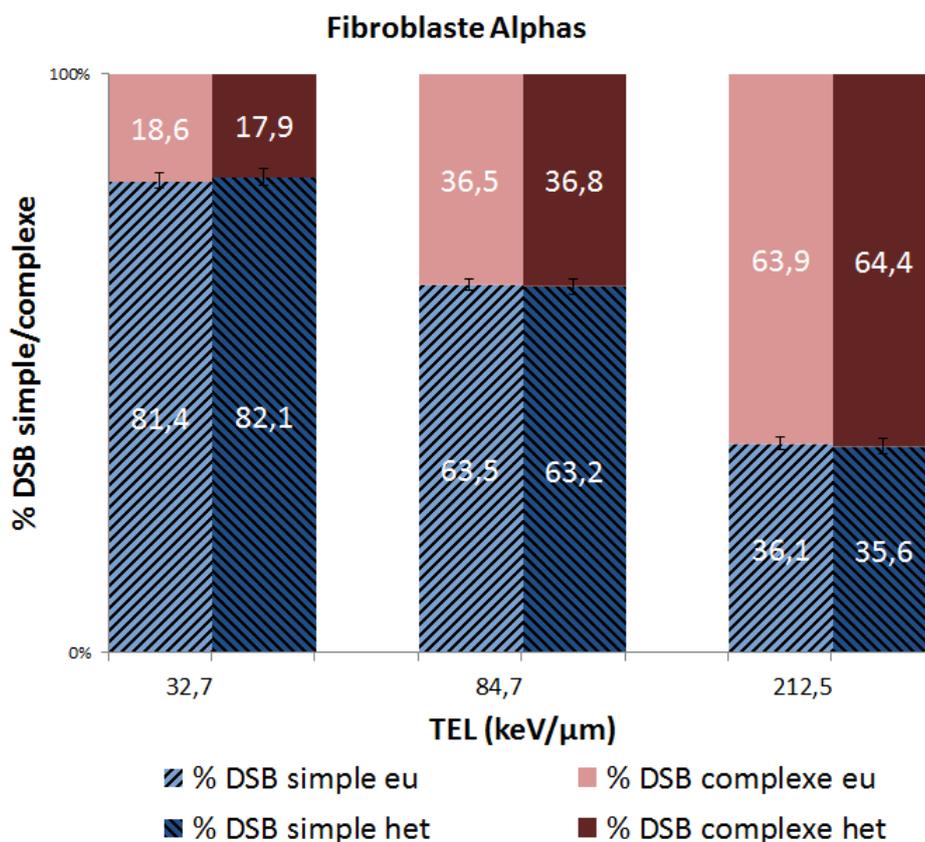


Figure 3.9 : Proportions (en %) de DSB simple et complexe par Gy et par Gbp dans le modèle du noyau de fibroblaste rempli exclusivement d'hétérochromatine ou d'euchromatine pour des alphas de TEL 32,7, 84,7 et 212,5 keV/μm. En bleu : la proportion de DSB simple (bleu foncé pour l'hétérochromatine, bleu clair pour l'euchromatine). En rouge : la proportion de DSB complexe (rouge foncé pour l'hétérochromatine, rouge clair pour l'euchromatine). Les proportions ont été calculées en divisant le nombre de DSB simple ou complexe par Gy et par Gbp par le nombre total de DSB par Gy et par Gbp. Les barres d'erreur correspondent à l'erreur quadratique moyenne sur le nombre moyen de DSB simple et complexe par Gy et par Gbp.

Les différences relatives entre l'hétérochromatine et l'euchromatine pour les proportions de SB direct et indirect, et les proportions de DSB simple et complexe sont récapitulées dans le tableau 3.3.

Tableau 3.3 : Différences relatives entre l'hétérochromatine et l'euchromatine pour les proportions de SB direct/indirect et de DSB simple/complexe pour les différentes qualités de rayonnement.

Qualité du rayonnement	Différences relatives HC/EC pour les proportions de SB direct/indirect	Différences relatives HC/EC pour les proportions de DSB simple/complexe
Protons 2,7 keV/ μm	2,8%	2,4%
Protons 4,6 keV/ μm	2,7%	0,1%
Protons 27,2 keV/ μm	3,6%	2,6%
Protons 47,9 keV/ μm	4,8%	1,5%
Alphas 32,7 keV/ μm	3,8%	0,7%
Alphas 84,7 keV/ μm	6,1%	0,3%
Alphas 212,5 keV/ μm	7,3%	0,5%

De façon générale, le nombre de DSBs est souvent présenté sous la forme de DSB/Gy/Gbp. Les résultats concernant le nombre absolu de DSB/Gy/Gbp dans le noyau de cellule endothéliale rempli exclusivement d'hétérochromatine ou avec une distribution uniforme de 48% d'hétérochromatine et 52% d'euchromatine par irradiation avec des faisceaux parallèles sont représentés figure 3.10. Tout d'abord, nous pouvons observer une augmentation du nombre de dommages lorsque le TEL augmente et ce, pour les deux configurations du noyau considérées ainsi que pour les protons et les alphas. De plus, sachant que la majorité des dommages à l'ADN provient de l'étape chimique, nous observons finalement plus de dommages à l'ADN en termes de DSB/Gy/Gbp dans les régions d'euchromatine que dans ceux d'hétérochromatine et, par extension, plus de dommages dans le modèle rempli des deux compactations de la chromatine par rapport à celui rempli uniquement d'hétérochromatine.

En revanche, les résultats simulés ne peuvent être directement comparés aux données expérimentales de la littérature. En effet, les seules données expérimentales disponibles sur le nombre de DSB/Gy/Gbp avec des protons et des alphas de différentes énergies, concernent d'autres types cellulaires comme par exemple le fibroblaste. Or, nous avons vu au début de ce chapitre que le type cellulaire et donc également la forme et la taille du noyau cellulaire avaient une influence sur le nombre de dommages à l'ADN. De ce fait, des études sont actuellement en cours par les radiobiologistes de l'IRSN en utilisant la plateforme d'irradiation du microfaisceau d'ions dédié à la radiobiologie des communications intra et inter cellulaire (MIRCOM) [VIANNA, 2014]. Ces études visent à étudier le nombre de dommages en irradiant de manière sélective, les régions distinctes d'hétérochromatine et d'euchromatine au sein des HUVECs avec des protons et des particules alphas. Cela permettra dans le futur, de fixer les paramètres de la simulation afin de reproduire au mieux les dommages à l'ADN lorsque l'on prend en compte les modèles d'hétérochromatine et d'euchromatine.

En ce qui concerne la comparaison avec les résultats issus d'autres codes de calcul, seul le code PARTRAC a publié des modèles géométriques d'hétérochromatine et d'euchromatine [FRIEDLAND et KUNDRAT, 2013]. Cependant, aucune étude n'a porté sur l'évaluation de l'influence des deux niveaux de compaction de la chromatine sur l'induction des dommages à l'ADN. De plus, chaque code ayant ses propres hypothèses et paramètres de simulation, il devient difficile de pouvoir comparer les

résultats issus de différents codes. Effectivement, le nombre de DSBs peut grandement varier selon les méthodes utilisées notamment pour déterminer les cassures directes. Dans des travaux précédents [MEYLAN, 2016 ; VILLAGRASA et al., 2017 ; SAKATA et al., 2019], il a été montré que le nombre de DSB/Gy/Gbp augmentait considérablement si on utilisait une probabilité linéaire de 5 à 37,5 eV comme dans PARTRAC [FRIEDLAND et al., 2003] au lieu du seuil de 17,5 eV pour les cassures directes, bien que les cassures directes soient minoritaires dans la formation des DSBs. Ces constatations sont également valables pour la méthode de calcul des cassures indirectes et des DSBs. Néanmoins, le nouveau format standard pour le calcul des dommages à l'ADN (SDD) pourrait permettre la simplification de ces comparaisons entre les différents codes de calcul [SCHUEMANN et al., 2018].

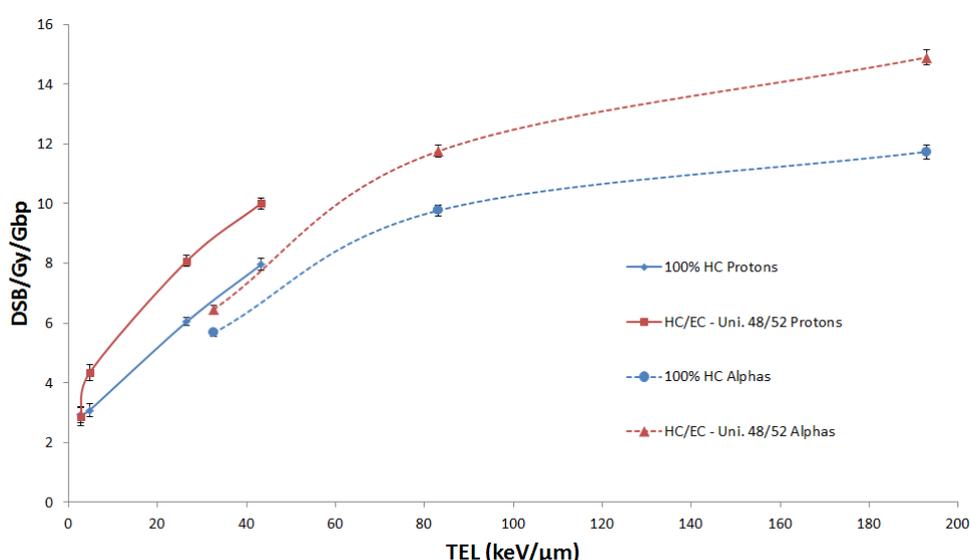


Figure 3.10 : Nombre absolu de DSB simulés par Gy et par Gbp en fonction du TEL pour des protons et des alphas dans le modèle de noyau de cellule endothéliale rempli que d'hétérochromatine (en bleu), ou avec une distribution uniforme d'hétérochromatine et d'euchromatine avec des proportions de 48% et de 52%, respectivement (en rouge). Le nombre de DSB/Gy/Gbp inclue les DSB simples et complexes. Les barres d'erreur correspondent à l'erreur quadratique moyenne sur le nombre moyen de DSB/Gy/Gbp.

D'après les résultats de cette partie, il semblerait donc que l'euchromatine soit plus sensible à l'induction de dommages à l'ADN que l'hétérochromatine. Cependant, la compaction plus importante de l'hétérochromatine vis-à-vis de l'euchromatine réduirait l'efficacité de la réparation de l'ADN en constituant en quelque sorte, une barrière physique [FALK et al., 2010]. En effet, une décondensation préalable de l'hétérochromatine est nécessaire lors de la réparation des DSBs pour permettre l'accès aux protéines réparatrices de l'ADN. Soulignons également que le nombre de dommages à l'ADN plus important dans l'euchromatine pourrait mener à une fréquence plus importante d'aberrations chromosomiques [COSTES et al., 2010].

3.3.2 Influence de la durée de la simulation de l'étape chimique

Jusqu'à présent, la durée de la simulation de l'étape chimique était fixée par défaut à 2,5 ns dans la chaîne de simulation [MEYLAN et al., 2017] et tous les résultats présentés jusqu'à maintenant dans ce chapitre ont été obtenus avec cette valeur. Cette durée est représentative de la durée de vie moyenne d'un radical OH• dans un milieu cellulaire réel [ABOLFATH et al., 2013]. Néanmoins, cette durée va aussi déterminer dans la simulation, la distance que peut parcourir une espèce chimique et en particulier le radical OH•, responsable majeur des dommages indirects.

De ce fait, une étude sur l'influence de la durée de la simulation de l'étape chimique a été menée. En effet, comme mentionné précédemment, le piégeage est considéré dans la simulation par des hypothèses effectuées dans le module chem_geo mais ne reflétant en aucun cas le piégeage « réel ». Par conséquent, nous ne pouvons donc pas exclusivement nous baser sur la durée de vie moyenne d'un OH• de 2,5 ns qui a été mesurée expérimentalement dans un milieu cellulaire. Il serait préférable de se baser sur le parcours moyen du OH• au sein du noyau cellulaire après irradiation qui se trouve être d'environ 6 nm [ROOTS et OKADA, 1975 ; STEWART, 2018] plutôt que sur sa durée de vie moyenne. Effectivement, la distance que peut parcourir un OH• peut jouer un rôle dans la distribution spatiale des dommages lorsque l'on considère les modèles d'hétérochromatine et d'euchromatine. Il convient donc de simuler au mieux cette distance.

Pour cela, dans un premier temps, des simulations ont été effectuées afin de déterminer le parcours moyen du radical OH• en fonction de la durée de la simulation de l'étape chimique. Ces simulations ont été effectuées dans des voxels de 40 nm et 50 nm de côté et dans différentes configurations : un voxel ne contenant que de l'eau (sans d'ADN), un voxel « droit » d'euchromatine et un voxel « droit » d'hétérochromatine. Les résultats sont présentés dans le tableau 3.4. Pour calculer la distance des OH•, leur position initiale lors de leur création est enregistrée. Ensuite, la position finale de chaque OH• est recueillie. Cette dernière peut être enregistrée dans trois situations différentes :

- Lors de la réaction du OH• considéré avec une autre molécule.
- Lorsque le OH• sort du voxel. En effet, la chimie se déroulant de façon indépendante dans chaque voxel, le OH• n'est plus considéré lorsqu'il quitte le voxel.
- Lorsque la durée de la simulation de l'étape chimique est atteinte.

Les résultats sont donnés dans le tableau 3.4 : pour chaque valeur du parcours moyen, 10 simulations ont été effectuées, les erreurs correspondent à l'écart-type sur la moyenne.

De façon générale, le parcours moyen des radicaux OH• augmente avec la durée de simulation de l'étape chimique. De plus, le parcours moyen diminue en présence de la fibre de chromatine. En effet, les radicaux peuvent interagir avec les molécules d'ADN et l'histone ce qui entraîne une diminution du parcours. Nous pouvons également observer que la distance parcourue est légèrement plus élevée dans le voxel d'euchromatine que dans le voxel d'hétérochromatine compte tenu du fait

qu'il y ait moins d'histones dans l'euchromatine. En ce qui concerne l'influence des dimensions du voxel, peu de différences ont été observées entre les voxels de 40 nm et les voxels de 50 nm.

D'après le tableau 3.4, il semblerait donc qu'une durée de 10 ns pour la simulation de l'étape chimique soit la plus adaptée. Effectivement, le parcours moyen des radicaux OH• pour cette durée est d'environ 6 nm ce qui correspond au parcours moyen reporté dans la littérature [ROOTS et OKADA, 1975 ; STEWART, 2018]. Des durées inférieures à 10 ns mèneraient à des parcours moyens trop faibles (environ 4 nm). De même, des durées supérieures à 10 ns ne sont pas adaptées puisqu'elles mèneraient à des parcours moyens trop élevés.

Tableau 3.4 : Parcours moyen des radicaux OH• en fonction de la durée de la simulation de l'étape chimique pour des temps de 2,5, 10, 15 et 100 ns dans des voxels de 40 ou 50 nm de côté sans ADN ou comprenant une fibre d'hétérochromatine ou bien d'euchromatine.

Durée de simulation de l'étape chimique	2,5 ns	10 ns	15 ns	100 ns
Voxel 40 nm sans ADN	4,7 +/- 0,7 nm	7,9 +/- 0,6 nm	9,3 +/- 1,1 nm	21,4 +/- 4,2 nm
Voxel 50 nm sans ADN	4,6 +/- 0,4 nm	8,0 +/- 1,0 nm	10,1 +/- 1,1 nm	21,9 +/- 1,8 nm
Voxel droit 40 nm EC	3,7 +/- 0,5 nm	6,1 +/- 1,1 nm	8,0 +/- 1,2 nm	14,3 +/- 2,4 nm
Voxel droit 50 nm EC	4,2 +/- 0,5 nm	7,2 +/- 0,6 nm	8,9 +/- 1,6 nm	16,4 +/- 1,7 nm
Voxel droit 40 nm HC	3,9 +/- 0,7 nm	5,3 +/- 1,1 nm	6,9 +/- 2,2 nm	10,8 +/- 2,9 nm
Voxel droit 50 nm HC	4,1 +/- 0,4 nm	6,7 +/- 1,3 nm	7,2 +/- 1,3 nm	12,9 +/- 3,6 nm

Similairement au travail de Meylan [MEYLAN, 2016], l'impact de la durée de simulation de l'étape chimique a été évalué sur le nombre moyen de DSB/kbp. Ces résultats sont présentés dans les figures 3.11 et 3.12 pour les deux types de compaction de la chromatine irradiés par des protons de 0,5 MeV et des alphas de 5,27 MeV (TELs de 43 keV/μm et 83 keV/μm respectivement). Ces résultats ont été simulés dans quatre voxels « droit » d'hétérochromatine ou dans quatre voxels « droit » d'euchromatine, la configuration de l'irradiation de ces voxels étant illustrée à la figure 3.13. Dans cette configuration, les particules primaires sont générées aléatoirement à partir de la surface d'un cylindre entourant les quatre voxels et sont dirigées vers l'intérieur des voxels. Les simulations ont été effectuées pour des durées de la simulation de l'étape chimique de 1, 2,5, 10, 100 et 1000 ns.

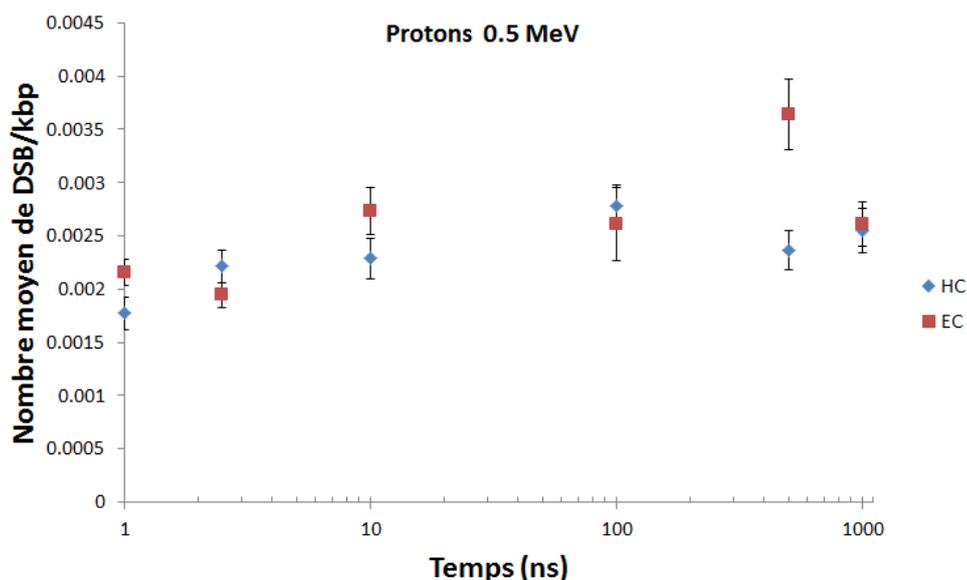


Figure 3.11 : Nombre moyen de DSB par kbp calculé en fonction de la durée de la simulation de l'étape chimique dans quatre voxels d'hétérochromatine ou quatre voxels d'euchromatine pour des protons de 0,5 MeV. Les barres d'erreur correspondent à l'erreur moyenne quadratique sur le nombre moyen de DSB par particule primaire.

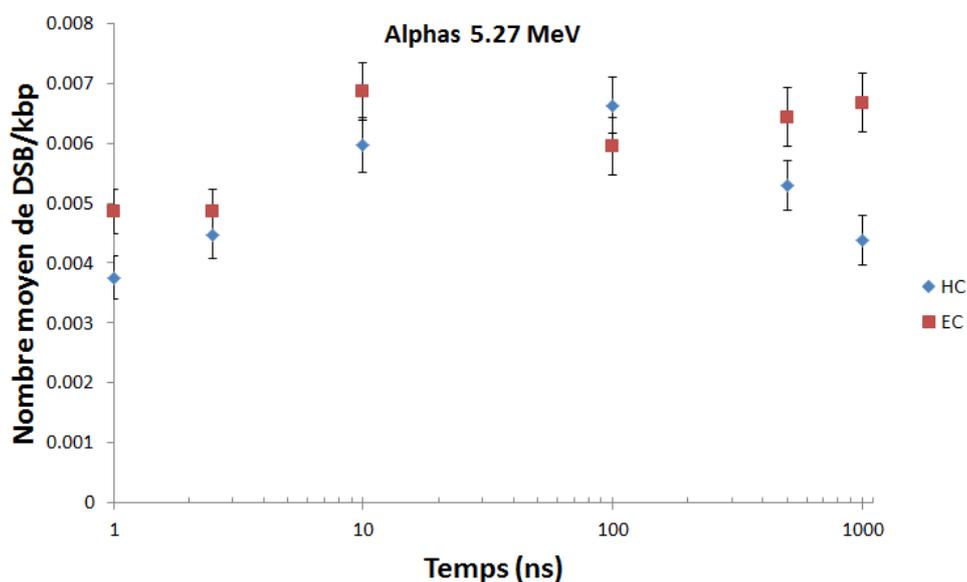


Figure 3.12 : Nombre moyen de DSB par kbp calculé en fonction de la durée de la simulation de l'étape chimique dans quatre voxels d'hétérochromatine ou quatre voxels d'euchromatine pour des alphas de 5,27 MeV. Les barres d'erreur correspondent à l'erreur moyenne quadratique sur le nombre moyen de DSB par particule primaire.

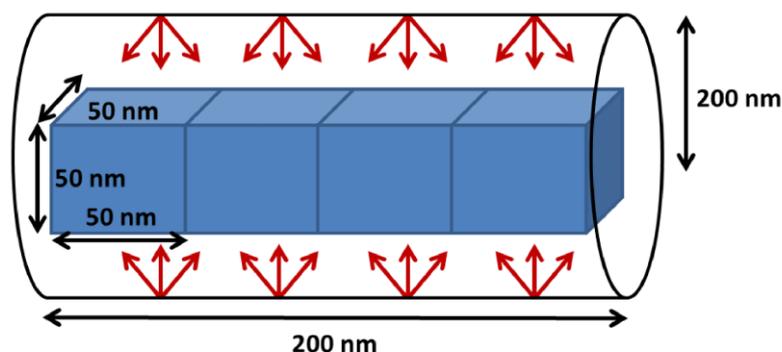


Figure 3.13 : Configuration de la simulation de l'irradiation de quatre voxels d'hétérochromatine ou d'euchromatine.

Pour les protons de 0,5 MeV et une durée de 2,5 ns, on constate que le nombre moyen de DSB/kbp est légèrement supérieur dans l'hétérochromatine que dans l'euchromatine avec des valeurs de $0,0022 \pm 0,0001$ et $0,0019 \pm 0,0001$, respectivement. Au contraire, pour les alphas de 5,27 MeV et toujours pour une durée de 2,5 ns, le nombre de DSB/kbp dans l'euchromatine est supérieur que celui dans l'hétérochromatine avec $0,0049 \pm 0,0003$ DSB/kbp et $0,0045 \pm 0,0004$ DSB/kbp respectivement. Pour une durée de 10 ns, plus de dommages dans l'euchromatine sont observés que dans l'hétérochromatine pour les protons de 0,5 MeV et les alphas de 5,27 MeV, ce qui est en accord avec différentes études [CANN et DELLAIRE, 2010 ; MAGNANDER et al., 2010 ; TAKATA et al., 2013].

Encore une fois, une durée de 10 ns semble mieux correspondre aux résultats attendus. Néanmoins, si la durée de la simulation de l'étape chimique est étendue à plus de 2,5 ns, des simulations devront être effectuées afin d'évaluer l'augmentation de l'induction des dommages à l'ADN dans un noyau cellulaire complet. Les paramètres de la chaîne de calcul seront notamment ajustés par rapport aux données expérimentales des dommages ayant lieu dans les régions d'hétérochromatine ou d'euchromatine qui seront obtenues prochainement à l'IRSN avec l'utilisation du microfaisceau MIRCOM. Pour le moment, la durée de la simulation de l'étape chimique est maintenue à 2,5 ns.

3.4 Conclusions du chapitre

Dans ce chapitre, nous avons vu que le nombre de dommages dépendait du volume du noyau cellulaire mais également du rapport du volume de l'ADN nucléaire sur le volume du noyau cellulaire selon que l'on considère le nombre de dommages exprimé en termes de DSB/Gy/Gbp ou en termes de DSB/pp/ μm . En effet, plus le volume nucléaire est important et plus le nombre de DSB/Gy/Gbp est élevé. De même, lorsque le rapport du volume de l'ADN nucléaire sur le volume du noyau cellulaire augmente, le nombre de DSB/pp/ μm augmente.

Nous avons également pu calculer le nombre de fragments d'ADN/Gy/Gbp pour différentes tailles correspondant à des échelles nanométrique et microscopique en utilisant la méthode employée dans le code de calcul PARTRAC afin de comparer les deux simulations. Nous avons remarqué que les particules de haut TEL tendent à générer beaucoup plus de fragments que les particules de plus faible TEL.

Enfin, il a été montré que le niveau de compaction de la chromatine avait un impact sur le nombre de dommages précoces à l'ADN. L'euchromatine, étant moins condensée que l'hétérochromatine et ayant donc moins de nucléosomes, est plus sensible à l'induction de dommages indirects que l'hétérochromatine. Néanmoins, la complexité des dommages reste similaire entre les deux niveaux de compaction.

L'introduction du modèle géométrique d'euchromatine dans la simulation permettra dans les prochains travaux, d'obtenir une répartition plus précise des dommages à l'ADN en fonction des régions d'hétérochromatine et d'euchromatine dans le but d'améliorer les modèles de risque associés aux rayonnements ionisants. Pour cela, les expériences qui seront menées à l'IRSN avec le microfaisceau MIRCOM permettront de fixer les paramètres de la simulation afin de mieux prendre en compte les différences entre l'hétérochromatine et l'euchromatine en termes de DSB.

Références

- Abolfath, R. M., Carlson, D. J., Chen, Z. J., et al. (2013). A molecular dynamics simulation of DNA damage induction by ionizing radiation. *Physics in Medicine and Biology*, 58(20), 7143-7157. <https://doi.org/10.1088/0031-9155/58/20/7143>
- Alloni, D., Ballarini, F., Belli, M., et al. (2007). Modeling of DNA fragmentation induced in human fibroblasts by ⁵⁶Fe ions. *Advances in Space Research*, 40(9), 1401-1407. <https://doi.org/10.1016/j.asr.2007.05.078>
- Alloni, D., Campa, A., Belli, M., et al. (2011). Monte Carlo evaluation of DNA fragmentation spectra induced by different radiation qualities. *Radiation Protection Dosimetry*, 143(2-4), 226-231. <https://doi.org/10.1093/rpd/ncq384>
- Cann, K. L., et Dellaire, G. (2010). Heterochromatin and the DNA damage response: the need to relax This paper is one of a selection of papers in a Special Issue entitled 31st Annual International Asilomar Chromatin and Chromosomes Conference, and has undergone the Journal's usual peer review process. *Biochemistry and Cell Biology*, 89(1), 45-60. <https://doi.org/10.1139/O10-113>
- Costes, S. V., Chiolo, I., Pluth, J. M., et al. (2010). Spatiotemporal characterization of ionizing radiation induced DNA damage foci and their relation to chromatin organization. *Mutation Research*, 704(1-3), 78-87. <https://doi.org/10.1016/j.mrrev.2009.12.006>
- Dos Santos, M. (2013). *Modélisation de la topologie des dépôts d'énergie créés par un rayonnement ionisant à l'échelle nanométrique dans les noyaux cellulaires et relation avec les événements précoces radio-induits* (Thèse). Université Bordeaux.
- Elia, M. C., et Bradley, M. O. (1992). Influence of chromatin structure on the induction of DNA double strand breaks by ionizing radiation. *Cancer Research*, 52(6), 1580-1586.
- Falk, M., Lukasova, E., et Kozubek, S. (2010). Higher-order chromatin structure in DSB induction, repair and misrepair. *Mutation Research*, 704(1-3), 88-100. <https://doi.org/10.1016/j.mrrev.2010.01.013>
- Frankenberg, D., Brede, H. J., Schrewe, U. J., et al. (1999). Induction of DNA Double-Strand Breaks by 1 H and 4 He Ions in Primary Human Skin Fibroblasts in the LET Range of 8 to 124 keV/μm. *Radiation Research*, 151(5), 540-549. <https://doi.org/10.2307/3580030>
- Friedland, W., Jacob, P., Bernhardt, P., et al. (2003). Simulation of DNA Damage after Proton Irradiation. *Radiation Research*, 159(3), 401-410. [https://doi.org/10.1667/0033-7587\(2003\)159\[0401:SODDAP\]2.0.CO;2](https://doi.org/10.1667/0033-7587(2003)159[0401:SODDAP]2.0.CO;2)
- Friedland, W., et Kundrát, P. (2013). Track structure based modelling of chromosome aberrations after photon and alpha-particle irradiation. *Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis*, 756(1), 213-223. <https://doi.org/10.1016/j.mrgentox.2013.06.013>
- Friedland, W., Schmitt, E., Kundrát, P., et al. (2017). Comprehensive track-structure based evaluation of DNA damage by light ions from radiotherapy-relevant energies down to stopping. *Scientific Reports*, 7, 45161. <https://doi.org/10.1038/srep45161>
- Li, Y., Qian, H., Wang, Y., et al. (2012). A stochastic model of DNA fragments rejoining. *PloS One*, 7(9), e44293. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0044293>

- Magnander, K., Hultborn, R., Claesson, K., et al. (2009). Clustered DNA Damage in Irradiated Human Diploid Fibroblasts: Influence of Chromatin Organization. *Radiation Research*, 173(3), 272-282. <https://doi.org/10.1667/RR1891.1>
- Meylan, S. (2016). *Développement d'un outil de simulation multi-échelles adapté au calcul des dommages radio-induits précoces dans des cellules exposées à des irradiations d'ions légers (proton et alpha)* (Thèse). Université Bordeaux.
- Meylan, S., Incerti, S., Karamitros, M., et al. (2017). Simulation of early DNA damage after the irradiation of a fibroblast cell nucleus using Geant4-DNA. *Scientific Reports*, 7(1), 11923. <https://doi.org/10.1038/s41598-017-11851-4>
- Radulescu, I., Elmroth, K., et Stenerlöw, B. (2004). Chromatin Organization Contributes to Non-randomly Distributed Double-Strand Breaks after Exposure to High-LET Radiation. *Radiation Research*, 161(1), 1-8. <https://doi.org/10.1667/RR3094>
- Roots, R., et Okada, S. (1975). Estimation of life times and diffusion distances of radicals involved in x-ray-induced DNA strand breaks of killing of mammalian cells. *Radiation Research*, 64(2), 306-320.
- Sakata, D., Lampe, N., Karamitros, M., et al. (2019). Evaluation of early radiation DNA damage in a fractal cell nucleus model using Geant4-DNA. *Physica Medica*, 62, 152-157. <https://doi.org/10.1016/j.ejmp.2019.04.010>
- Schmid, T. E., Friedland, W., Greubel, C., et al. (2015). Sub-micrometer 20MeV protons or 45MeV lithium spot irradiation enhances yields of dicentric chromosomes due to clustering of DNA double-strand breaks. *Mutation Research. Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis*, 793, 30-40. <https://doi.org/10.1016/j.mrgentox.2015.07.015>
- Schmid, T. E., Greubel, C., Hable, V., et al. (2012). Low LET protons focused to submicrometer shows enhanced radiobiological effectiveness. *Physics in Medicine and Biology*, 57(19), 5889-5907. <https://doi.org/10.1088/0031-9155/57/19/5889>
- Schuemann, J., McNamara, A. L., Warmenhoven, J. W., et al. (2018). A New Standard DNA Damage (SDD) Data Format. *Radiation Research*, 191(1), 76-92. <https://doi.org/10.1667/RR15209.1>
- Stewart, R. D. (2018). Induction of DNA Damage by Light Ions Relative to 60Co γ -rays. *International Journal of Particle Therapy*, 5(1), 25-39. <https://doi.org/10.14338/IJPT-18-00030>
- Takata, H., Hanafusa, T., Mori, T., et al. (2013). Chromatin compaction protects genomic DNA from radiation damage. *PloS One*, 8(10), e75622. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0075622>
- Tang, N., Bueno, M., Meylan, S., et al. (2019a). Simulation of early radiation-induced DNA damage on different types of cell nuclei. *Radiation Protection Dosimetry*, 183(1-2), 26-31. <https://doi.org/10.1093/rpd/ncy237>
- Tang, N., Bueno, M., Meylan, S., et al. (2019b). Influence of chromatin compaction on simulated early radiation-induced DNA damage using Geant4-DNA. *Medical Physics*, 46(3), 1501-1511. <https://doi.org/10.1002/mp.13405>
- Vianna, F. (2014). *Micro-irradiation ciblée par faisceau d'ions pour la radiobiologie in vitro et in vivo*. (Thèse). Université Bordeaux.

Villagrasa, C., Meylan, S., Gonon, G., et al. (2017). Geant4-DNA simulation of DNA damage caused by direct and indirect radiation effects and comparison with biological data. *EPJ Web Conf*, 153, 04019. <https://doi.org/10.1051/epjconf/201715304019>

Ward, J. F. (1994). The complexity of DNA damage: relevance to biological consequences. *International Journal of Radiation Biology*, 66(5), 427-432.

Chapitre 4 - Mise en place de la simulation micro et nanodosimétrique pour des irradiations photon : comparaison à des données expérimentales

Sommaire

4.1 Population de cellules endothéliales irradiées par des rayons X de différentes énergies.....	135
4.1.1 Simulation de la configuration expérimentale de l'irradiation des HUVECs	137
4.1.2 Simulation en deux étapes.....	140
4.1.3 Approches microdosimétrique et nanodosimétrique	144
4.1.3.1 Calculs microdosimétriques dans la population cellulaire	144
4.1.3.2 Calculs nanodosimétriques dans le noyau de cellule endothéliale	147
4.2 Etude des dommages à l'ADN dans la levure <i>Saccharomyces cerevisiae</i> après irradiation avec une source de Césium-137	151
4.2.1 Contexte de l'étude	151
4.2.2 Modèle géométrique du noyau de <i>S. cerevisiae</i>	154
4.2.3 Simulation de la configuration expérimentale de l'irradiation	154
4.2.4 Nombre de DSBs simulés par Gray et par cellule et complexité des DSBs	157
4.3 Conclusions du chapitre	158
Références	160

Les études concernant les effets biologiques induits par les rayonnements ionisants emploient généralement les irradiations photon, soit comme source d'irradiation principale, soit comme référence afin d'étudier d'autres types de rayonnement (proton, alphas, ions carbone...) [DURANTE, 2014]. De plus, les irradiations photon nécessitent des installations moins complexes que pour les autres types de rayonnement. C'est d'ailleurs l'une des raisons pour lesquelles, la plupart des données expérimentales que l'on peut trouver dans la littérature concernent les irradiations photon. Il devient alors rapidement nécessaire de s'intéresser à ce type de rayonnement lorsque l'on veut comparer des données issues des simulations à plusieurs données expérimentales, ce qui est beaucoup plus compliqué pour le cas des protons et des alphas par exemple, comme nous avons pu le voir au chapitre 3.

Grâce au développement et à l'utilisation de la méthode de l'espace des phases présentée au chapitre 2 (Cf. Section 2.4.2), nous avons maintenant la possibilité de simuler les irradiations photon. Ce chapitre, divisé en deux parties, présente donc les principes et les résultats des simulations concernant ce type d'irradiation.

Dans un premier temps, nous nous intéresserons à l'étude des différents dommages précoces à l'ADN induits par des irradiations de cellules endothéliales (HUVECs) en utilisant différentes qualités de rayons X. Ces irradiations ont été effectuées par les radiobiologistes de l'IRSN et les résultats obtenus expérimentalement ont été comparés aux données issues des simulations permettant ainsi de valider les paramètres utilisés dans cette chaîne de calcul.

Afin de présenter les applications diverses de DnaFabric ainsi que de la chaîne de simulation basée sur Geant4-DNA, nous présenterons dans un second temps, une étude réalisée en collaboration avec le Laboratoire des télomères et réparation du chromosome (LTR) du Commissariat à l'énergie atomique et aux énergies alternatives (CEA). Ce travail porte sur l'étude de l'irradiation de cellules de levure, *Saccharomyces cerevisiae*, par une source de Césium-137.

4.1 Population de cellules endothéliales irradiées par des rayons X de différentes énergies

Pour l'évaluation des dommages à l'ADN lors d'irradiations par des photons, la plupart des expériences en radiobiologie s'appuient sur la dose absorbée moyenne comme grandeur permettant de faire le lien avec les dommages à l'ADN pour des faibles doses [GRUEL et al., 2016]. Ces expériences considèrent donc que la population cellulaire reçoit une dose homogène et égale à la dose absorbée macroscopique D. Cependant, du fait de la nature stochastique des dépôts d'énergie, l'énergie reçue d'une cellule à une autre peut être significativement différente et cette variabilité intercellulaire peut se traduire en une possible différence d'évolution de certaines cellules de la population irradiée.

En général, les rayons X (RX) sont considérés comme des rayonnements à faible TEL. Ainsi, la Commission internationale de protection radiologique (CIPR) a attribué un facteur de pondération w_R de 1 pour tous les photons et les électrons quelle que soit leur énergie [BELLAMY et al., 2015]. Cependant, dans la littérature, il est établi que les photons de faible énergie ont une efficacité biologique relative (EBR) supérieure à ceux de plus haute énergie, et peuvent conduire à plus de risques à faible dose pour plusieurs finalités biologiques telles que les cassures double brins de l'ADN [FRANKENBERG et al., 2000 ; FRIEDLAND et al., 2002 ; KUHNE et al., 2005], les aberrations chromosomiques [SCHMID et al., 2002 ; MESTRES et al., 2010], la formation de micro noyaux [SLONINA et al., 2003 ; LEHNERT et al., 2008], et la survie cellulaire [FRANKENBERG et al., 2002 ; GOGGELMANN et al., 2003].

Cela pourrait être expliqué par le fait que le type d'interaction (effet photoélectrique, effet Compton et création de paires), qui est à l'origine du dépôt d'énergie, est en partie fonction de l'énergie des photons considérés. Des différences dans les structures de traces et donc, dans la topologie des dépôts d'énergie, peuvent alors apparaître et entraîner des différences dans la répartition spatiale des DSBs [PRISE et al., 2001 ; FRIEDRICH et al., 2015]. Le nombre de DSBs, leur répartition spatiale et leur proximité, jouent un rôle important dans la formation d'aberrations chromosomiques et d'autres finalités biologiques telles que la mort cellulaire [ELSASSER et SCHOLZ, 2007 ; BALLARINI et CARANTE, 2016].

A partir de ces constats, l'objectif de cette première étude est donc d'évaluer et de comparer la dispersion statistique à l'échelle de la population cellulaire (calculs microdosimétriques au niveau des noyaux cellulaires) et à celle de l'ADN en s'intéressant au nombre de DSBs (calculs nanodosimétriques) pour différentes sources de photons. Cette étude a été réalisée en collaboration avec les radiobiologistes de l'IRSN dans le cadre du programme ROSIRIS. Pour cela, des plateaux monocouches de cellules endothéliales (HUVECs) ont été irradiées avec des RX de 40 kVp, de 220 kVp et de 4 MVp [FRENEAU et al., 2018] afin notamment, de refléter les énergies généralement utilisées en mammographie [BOONE, 1998 ; HOESCHEN et al. 2005], les énergies communément étudiées dans les expériences de radiobiologie [NIKJOO et LINDBORG, 2010], et les énergies plus élevées de l'ordre du MeV utilisées en radiothérapie [SOMMAT et al., 2017], respectivement. Également, le choix de ces énergies de photons réside dans la différence de la proportion des effets photoélectrique et Compton entre ces énergies, comme nous le verrons par la suite. En effet, on s'attend à ce que les électrons provenant d'un effet photoélectrique engendrent une plus grande densité locale de dépôts d'énergie que les électrons qui auraient été créés par effet Compton. Les mesures expérimentales des DSBs obtenues par les radiobiologistes ont alors été comparées aux résultats obtenus par simulation.

4.1.1 Simulation de la configuration expérimentale de l'irradiation des HUVECs

Les HUVECs ont été synchronisées en phase G0/G1 du cycle cellulaire afin de maximiser l'homogénéité du contenu en ADN dans chacun de leur noyau. Puis, elles ont été irradiées en utilisant deux plateformes d'irradiation différentes de l'IRSN : une plateforme SARRP (Small animal radiation research platform, XSTRAHL Ltd) dédiée à l'irradiation du petit animal et un accélérateur linéaire médical, Alphée (Elekta Synergy®). Pour le SARRP, les irradiations ont été effectuées avec des RX de 40 kVp et des RX de 220 kVp tandis que l'accélérateur linéaire médical a été utilisé pour délivrer des RX de 4 MVp. Les irradiations ont été réalisées dans les conditions d'équilibre électronique dans un champ homogène. La simulation de ces irradiations a été effectuée dans le but d'étudier les aspects microdosimétrique et nanodosimétrique de chaque configuration.

Configuration SARRP

Pour les irradiations avec le SARRP, la filtration utilisée comprend une filtration inhérente de 0,8 mm de béryllium et une filtration additionnelle de 1 mm d'aluminium qui a pour conséquence la suppression des photons de faible énergie [FRENEAU et al., 2018]. Les spectres énergétiques des photons correspondant aux RX de 40 et 220 kVp sont représentés dans la figure 4.1. Les spectres utilisés ont été calculés en utilisant le logiciel SpekCalc [POLUDNIEWSKI, 2007 ; POLUDNIEWSKI et EVANS, 2007 ; POLUDNIEWSKI et al., 2009]. Il en résulte des énergies moyennes des photons de 25,6 keV et 70,2 keV pour le 40 et 220 kVp respectivement.

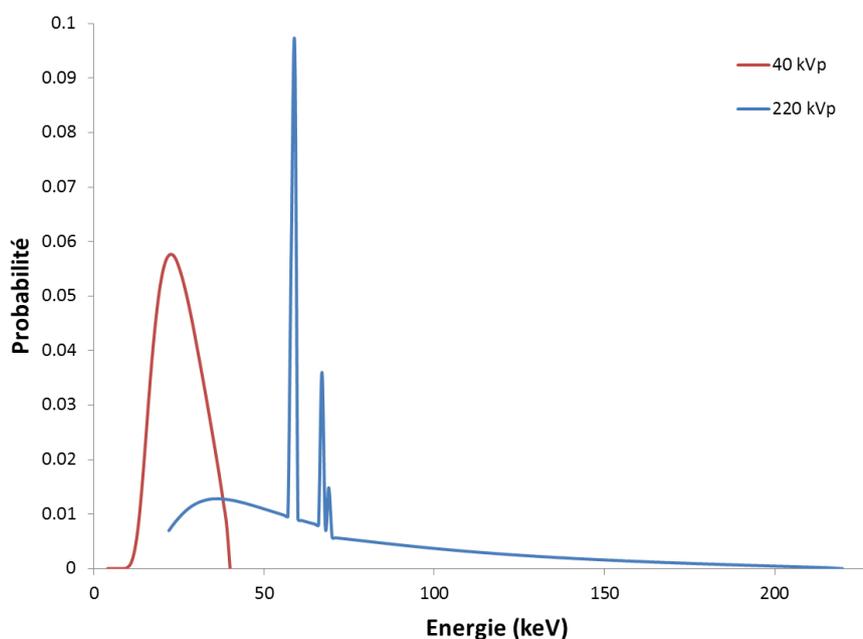


Figure 4.1 : Spectres énergétiques des RX de 40 kVp (en rouge) et 220 kVp (en bleu) correspondant aux irradiations du SARRP obtenus avec le logiciel SpekCalc [POLUDNIEWSKI et al., 2007a ; POLUDNIEWSKI et al., 2007b ; POLUDNIEWSKI et al., 2009].

Afin de réaliser la simulation Monte-Carlo de ces expériences et comme introduit au chapitre 2 (Cf. Chapitre 2 - Section 2.4.2), les simulations ont été divisées en deux parties. Dans la première partie, chaque spectre d'énergie des photons a été utilisé en tant que source de particules primaires. Le flacon de culture cellulaire est modélisé par un volume de polystyrène ($1,06 \text{ g.cm}^{-3}$) de 3 mm de hauteur, un volume d'eau de 5 μm de hauteur représentant la couche de cellules, suivi d'un volume d'eau de 3 mm de hauteur représentant le milieu cellulaire comme illustré dans la figure 4.2. Les dimensions dans le plan x-y pour chaque couche sont de 125 mm x 85 mm. Les photons sont générés en faisceau parallèle émis par le dessus et dirigé vers la monocouche de cellules.

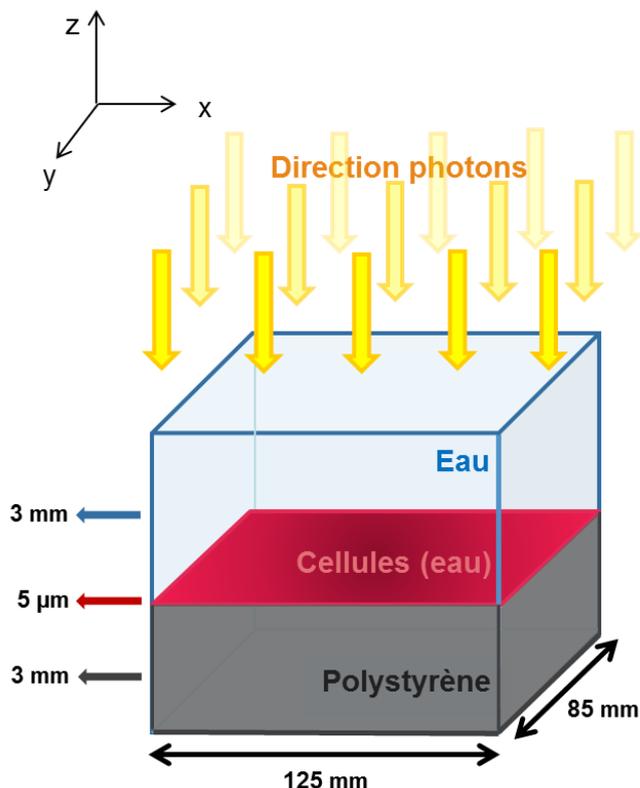


Figure 4.2 : Configuration de la première partie de la simulation pour l'irradiation SARRP. Le plateau cellulaire est modélisé par trois couches de matériaux (du haut vers le bas) : 3 mm d'eau représentant le milieu cellulaire, 5 μm d'eau définissant la couche de cellules et 3 mm de polystyrène modélisant le support. Les dimensions dans le plan x-y de chaque couche sont de 125 mm x 85 mm. Les photons sont générés en faisceau parallèle émis par le dessus et dirigé vers la monocouche de cellules.

Configuration Alphée

Pour la simulation de l'irradiation utilisant Alphée, le spectre énergétique correspondant au RX de 4 MVp est représenté dans la figure 4.3 et provient de la publication de Sheikh-Bagheri et al. [SHEIKH-BAGHERI et al., 2002]. L'énergie moyenne correspondante des photons est de 1,3 MeV. Même si ce spectre ne correspond pas exactement à notre installation, il représente les caractéristiques

moyennes en termes d'énergie et de fluence qui sont suffisantes pour étudier les différences avec les rayons X des irradiations SARRP. Le flacon de culture cellulaire (le même que celui utilisé dans la configuration du SARRP) est placé sur une table composée d'une couche de fibre de carbone ($0,55 \text{ g.cm}^{-3}$, 2 mm d'épaisseur), puis d'une couche de mousse de plastique ($0,03 \text{ g.cm}^{-3}$, 46 mm d'épaisseur), et enfin d'une autre couche de fibre de carbone (2 mm d'épaisseur) pour l'irradiation. Une couche additionnelle de Plexiglas® ($1,19 \text{ g.cm}^{-3}$, 5 mm d'épaisseur) est placée entre l'échantillon et la table pour produire l'équilibre électronique au niveau de la couche de cellules. Les dimensions dans le plan x-y de chaque couche sont de 125 mm x 85 mm. Dans cette configuration, les photons sont générés en faisceau parallèle émis par le dessous de la table vers le plateau cellulaire comme schématisé dans la figure 4.4.

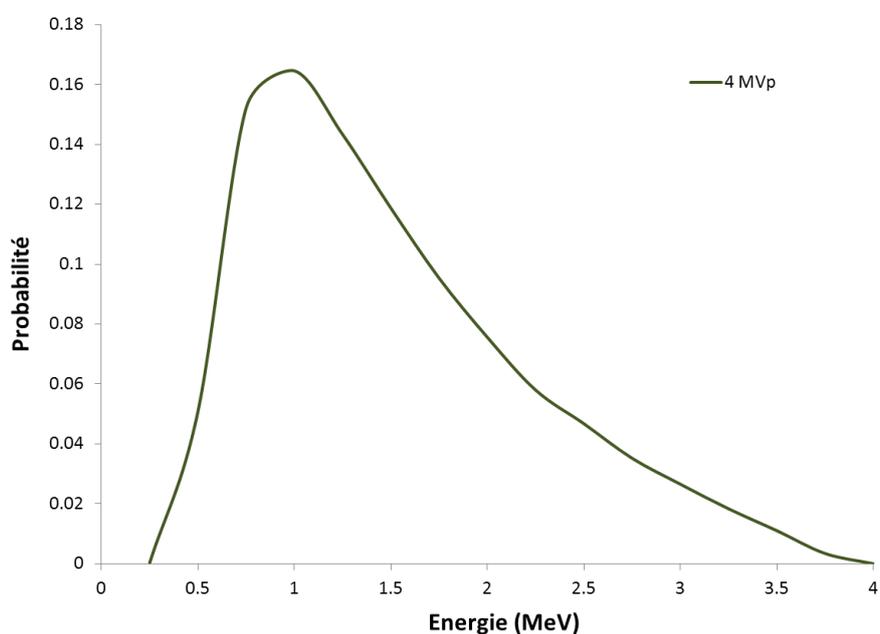


Figure 4.3 : Spectre énergétique des RX de 4 MVp [SHEIKH-BAGHERI et al., 2002].

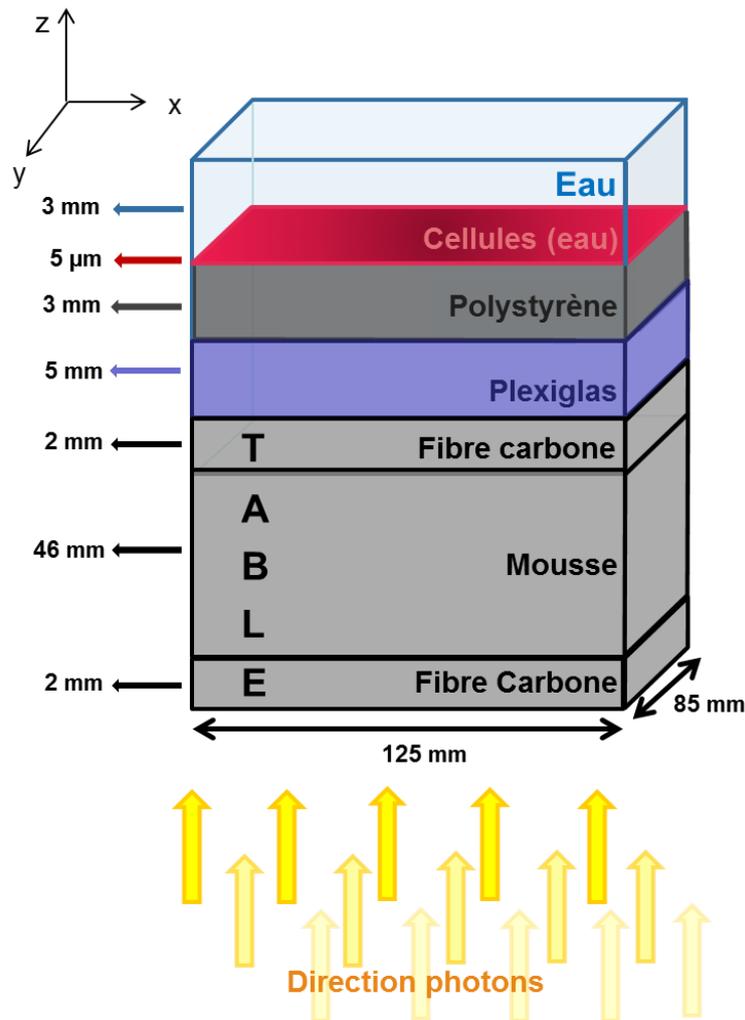


Figure 4.4 : Configuration de la première partie de la simulation pour l'irradiation Alpha. Le flacon de culture cellulaire (le même que celui utilisé pour la simulation du SARRP) est placé sur une table composée de fibre de carbone et de mousse. Entre le support de l'échantillon et la table, une couche de Plexiglas® de 5 mm est placée afin d'assurer l'équilibre électronique. Les photons sont générés en faisceau parallèle par en-dessous de la table vers le plateau cellulaire.

4.1.2 Simulation en deux étapes

La première étape consiste à simuler la source de photons à l'échelle macroscopique comme représenté dans les figures 4.2 et 4.4. Pour cela, la liste de physique de Geant4 10.2.p02 utilisant les modèles *Livermore* a été utilisée. Ces modèles permettent de simuler le transport des électrons jusqu'à une énergie minimale de 100 eV par défaut ainsi que le transport des photons. Dans cette simulation, la production d'électrons Auger a été prise en compte étant donné qu'elle pourrait avoir un impact sur les DSBs bien que n'étant pas majeure [KELLERER, 2002]. L'objectif de cette étape est d'enregistrer la position, la direction et l'énergie de chaque électron secondaire créé par les photons et atteignant la couche de cellules de 5 µm d'épaisseur. De plus, dès lors que l'électron est enregistré,

son suivi est stoppé afin d'être utilisé dans la deuxième partie de la simulation. Cette première partie est une étape cruciale dans la simulation des dommages radio-induits à l'ADN par les photons puisque le spectre des électrons secondaires va déterminer les dépôts d'énergie dans la couche de cellules ou dans les noyaux cellulaires [KIRKBY et al., 2013].

La deuxième partie de la simulation, correspond à la simulation micro ou nanodosimétrique dans les cellules irradiées. Les électrons qui ont été enregistrés lors de la première étape sont utilisés en tant que source de particules.

Dans le cas des calculs microdosimétriques, la couche cellulaire est réduite dans les dimensions (x, y) et ainsi modélisée par un volume de 4 mm x 4 mm x 5 µm (x, y, z, respectivement). Les coordonnées en x-y des électrons issus de la première phase de la simulation hors du champ de 4 mm x 4 mm sont alors échantillonnées de nouveau, de façon uniforme, afin d'être toujours contenues dans le volume de la couche cellulaire. Dans ce volume, 10 000 fantômes de noyaux de cellules endothéliales ont été placés au milieu de la couche en utilisant la classe *G4PVParameterisation* de Geant4 et les noyaux sont remplis uniquement d'eau (sans volumes d'ADN) comme illustré dans la figure 4.5. Pour rappel, les noyaux de cellules endothéliales sont modélisés en tant que cylindres elliptiques (demi-grand axe : 9,5 µm ; demi-petit axe : 5,1 µm ; hauteur : 2,0 µm) avec un volume total de 304,4 µm³. Dans cette simulation, nous enregistrons tous les dépôts d'énergie correspondant aux interactions des électrons dans les noyaux cellulaires afin de calculer l'énergie spécifique dans chaque noyau i , $z_i = \frac{\sum_j \epsilon_j}{m_i}$. A partir des 10 000 valeurs d'énergie spécifique ainsi calculées, il est possible de calculer la distribution $f(z; D)$ dans la population cellulaire et quantifier les différences dans l'énergie spécifique reçue par chaque noyau cellulaire. Pour cela, le constructeur physique *G4EmDNAPhysics_option2* de l'extension Geant4-DNA a été utilisé. Celle-ci permet le transport des électrons de 1 MeV jusqu'à 7,4 eV.

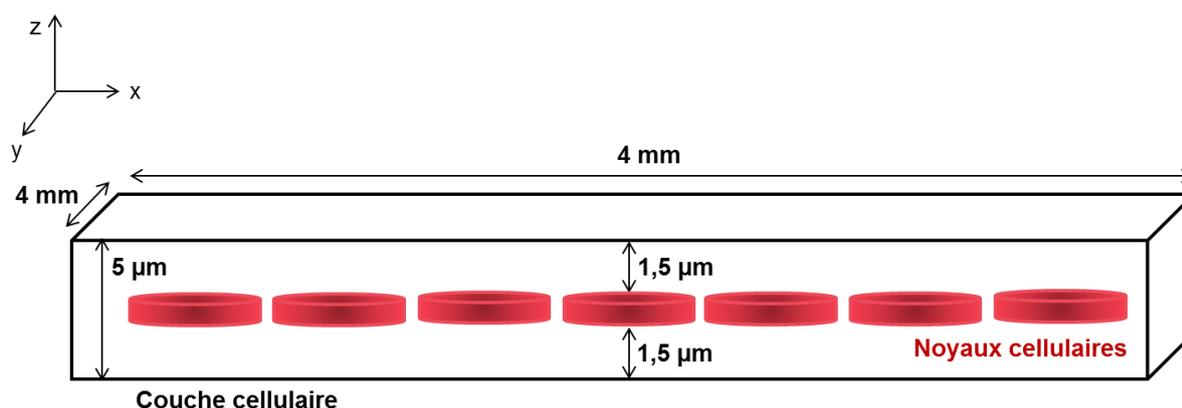


Figure 4.5 : Les noyaux sont placés au milieu de la couche cellulaire de 5 µm d'épaisseur. Pour une meilleure lisibilité, les dimensions de la figure ne sont pas à l'échelle.

En ce qui concerne les calculs nanodosimétriques, le modèle du noyau de cellule endothéliale rempli de 48% d'hétérochromatine et de 52% d'euchromatine en phase G0/G1 est utilisé (Cf. Chapitre 2 - Section 2.1.4). Précisons également que nous nous limitons ici à un seul noyau cellulaire au lieu des

10 000 noyaux comme précédemment mais plusieurs calculs indépendants sont réalisés pour le même fantôme représentant le noyau. La chaîne de simulation basée sur Geant4-DNA (Geant4 version 10.1.p02) a alors été utilisée afin de simuler les étapes physique, physico-chimique et chimique (Cf. Chapitre 2 - Section 2.3) et calculer les cassures double-brin d'ADN dans le noyau cellulaire pour une dose D fixée.

Spectres des électrons secondaires

Les proportions d'effet photoélectrique (EP), d'effet Compton (EC) et de production de paires (PAIRE) produites lors des interactions photons avec la couche d'eau représentant les cellules lors de la première étape de la simulation ont été enregistrées et comparées entre les trois énergies des RX. Pour les RX de 40 kVp, l'effet photoélectrique est dominant (68,9%) tandis que l'effet Compton représente 31,1% des interactions des photons comme indiqué dans le tableau 4.1. Effectivement et comme il était attendu, dans les cas des interactions avec de l'eau liquide, lorsque l'énergie du photon augmente, la proportion d'effet photoélectrique diminue et la proportion d'effet Compton augmente et devient prépondérante (19,6% et 80,4% respectivement pour les RX de 220 kVp). A plus haute énergie i.e. 4 MVp, le phénomène de création de paires peut être observé mais reste néanmoins peu fréquent (EP : 3,3%, EC : 96,3% ; PAIRE : 0,4%). Ces variations peuvent mener à des différences en termes de répartition des dépôts d'énergie aux échelles intracellulaires étant donné que les électrons secondaires résultants de ces trois processus ont des énergies différentes comme nous pouvons le voir dans la figure 4.6.

Tableau 4.1 : Proportions d'effet photoélectrique (EP), d'effet Compton (EC) et de création de paires (PAIRE), ainsi que l'énergie moyenne des électrons secondaires (en keV) pour chaque énergie de RX.

Qualité du rayonnement	RX 40 kVp	RX 220 kVp	RX 4 MVp
% EP	68,9	19,6	3,3
% EC	31,1	80,4	96,3
% PAIRE	0,0	0,0	0,4
Energie moyenne des électrons secondaires (keV)	9,8	18,4	858,4

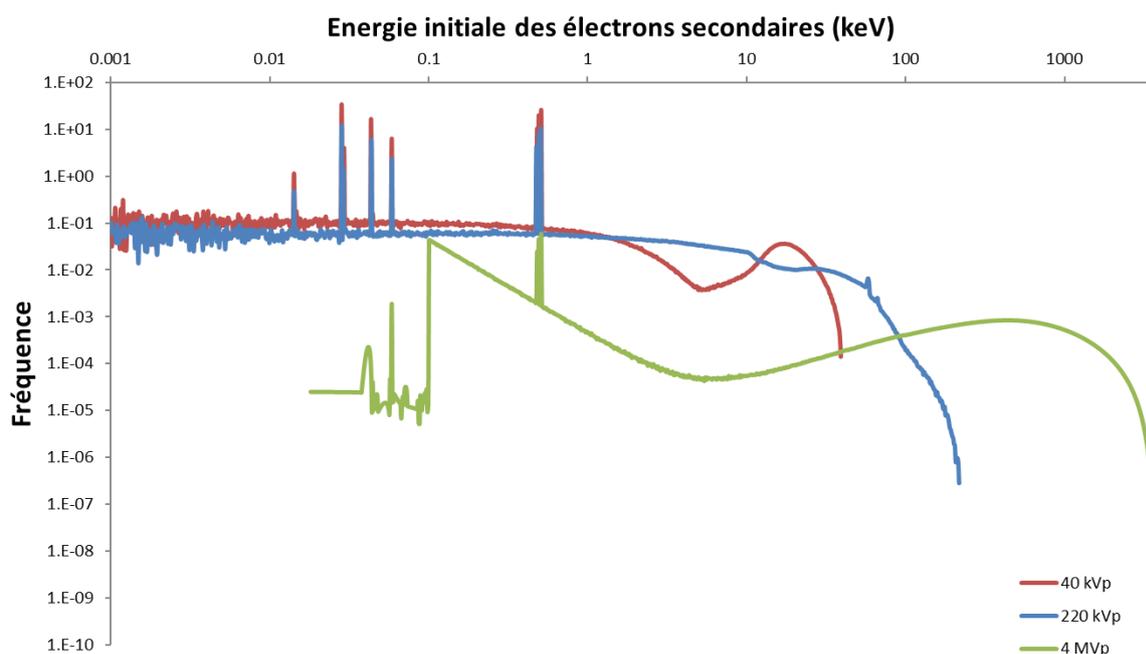


Figure 4.6 : Fréquence des électrons secondaires par énergie en échelle logarithmique résultant des RX de 40 kVp (en rouge), de 220 kVp (en bleu) et de 4 MVp (en vert).

Néanmoins, et contrairement à ce qui pouvait être espéré à partir de l'analyse de la proportion de chaque type d'interaction qui vient d'être présentée, nous pouvons remarquer que les électrons secondaires résultant des RX de 40 kVp et 220 kVp présentent des spectres en énergie assez similaires, et les énergies moyennes qui en découlent sont proches (9,8 et 18,4 keV respectivement). Au contraire, le spectre énergétique des électrons secondaires issus des RX de 4 MVp montre des différences relativement importantes et en particulier au niveau de son énergie moyenne qui est de 858,4 keV. A partir de ces spectres énergétiques des électrons secondaires, nous pouvons nous attendre à des variations de dépôts d'énergie en particulier entre 40/220 kVp et 4 MVp.

Notons néanmoins, qu'une forte diminution du nombre d'électrons secondaires d'énergie inférieure à 100 eV peut être observée dans la figure 4.6 pour les RX de 4 MVp. Cela n'est pas un phénomène physique mais un biais issu de la simulation et dû au seuil de production par défaut de 100 eV dans le constructeur de physique *Livermore* de Geant4. En effet, lorsqu'un électron atteint 100 eV dans la simulation, son énergie est déposée localement et son transport est stoppé. De ce fait, les électrons d'énergie inférieure à 100 eV n'ayant pas encore atteint la couche de cellules ou n'ayant pas été créés directement à l'intérieur de celle-ci ne sont pas enregistrés.

Cependant, cette diminution n'a pas été observée pour le 40 kVp et le 220 kVp. Cela s'explique par le fait que la majorité des électrons (85% et 68% respectivement) ont été créés directement à l'intérieur du volume de la couche cellulaire. En revanche, dans le cas des RX de 4 MVp, 98% des électrons ont été créés à la surface du bas de la couche de cellules (irradiation du bas vers le haut).

De ce fait, la grande majorité des électrons ayant une énergie inférieure à 100 eV n'ont pas été enregistrés excepté ceux qui ont été créés directement à l'intérieur de la couche cellulaire.

Afin de quantifier l'impact possible des électrons qui arrivent à la surface de la couche de cellules et avec une énergie cinétique inférieure à 100 eV et qui donc ne sont pas pris en compte dans le calcul, des simulations ont été effectuées où 10^6 électrons de 100 eV ont été générés à la surface de la couche et dirigés vers les noyaux cellulaires. Les noyaux cellulaires de $2 \mu\text{m}$ d'épaisseur étant placés au milieu de la couche de $5 \mu\text{m}$ (en z), la distance les séparant de chacune des surfaces est de $1,5 \mu\text{m}$. Il s'est avéré que cette distance était trop grande devant le parcours de ces électrons qui n'ont donc pas pu atteindre les noyaux cellulaires. En effet, des simulations ont été effectuées pour calculer la pénétration moyenne de 10^6 électrons de 100 eV, et il s'est avéré qu'elle est de $4 \text{ nm} \pm 2 \text{ nm}$. De ce fait, ces électrons ne vont pas contribuer au dépôt d'énergie dans les noyaux et cela justifie l'usage du seuil de coupure de 100 eV dans la simulation.

4.1.3 Approches microdosimétrique et nanodosimétrique

4.1.3.1 Calculs microdosimétriques dans la population cellulaire

A l'échelle de la population cellulaire, il existe donc une certaine dispersion statistique de l'énergie reçue par les différentes cellules et par conséquent une dispersion de la dose par cellule autour de la dose macroscopique d'irradiation. Nous pouvons alors nous demander quel est l'impact de la qualité de faisceau sur la proportion de cellules n'ayant pas reçu la dose macroscopique et dans quelle mesure cela pourrait expliquer des possibles différences pouvant être observées au niveau du devenir cellulaire comme la sénescence ou la mort cellulaire.

Pour y répondre, il faut donc calculer des valeurs de la dispersion statistique microdosimétrique σ_z^{rel} , à partir de la distribution $f(z; D)$ de l'énergie spécifique reçue par une population cellulaire lors d'irradiations avec les différents RX de 40/220 kVp et de 4 MVp tel que décrit au chapitre 2 (Cf. Section 2.2). L'écart-type σ_z de $f(z; D)$ représente la dispersion de l'énergie spécifique reçue par les noyaux cellulaires exposés à la dose macroscopique D. Le coefficient de variation est défini par :

$$\sigma_z^{\text{rel}} = \frac{\sigma_z}{D} \quad (4.1)$$

Durant la deuxième partie de la simulation correspondant au transport des électrons dans la couche cellulaire modélisée par 10 000 noyaux de cellules endothéliales, plusieurs informations sont recueillies : l'identifiant de l'évènement (eventID) qui correspond à une trace générée par un électron issu d'un spectre présenté à la figure 4.6, l'identifiant du noyau, et le dépôt d'énergie de chacune des interactions inélastiques des électrons. Pour calculer $f(z; D)$, tous les dépôts d'énergie sont additionnés pour chacun des noyaux cellulaires. L'énergie totale déposée dans chacun des 10 000

noyaux cellulaires a ensuite été convertie en Joules et divisée par la masse du volume du noyau (en kg) afin d'obtenir l'énergie spécifique en Gy (J/kg). La moyenne et l'écart-type σ_z des énergies spécifiques moyennes obtenues pour les 10 000 noyaux cellulaires ont été ensuite calculés. La valeur du σ_z^{rel} (en %) est l'écart-type σ_z divisé par la moyenne calculée précédemment et qui correspond à la dose macroscopique d'irradiation D (équation 4.1).

Une dose macroscopique initiale de 0,25 Gy a été simulée. Pour évaluer cette dose, un volume de 4 mm x 4 mm x 2 μ m a été pris en compte. Comme effectué précédemment, l'énergie totale déposée dans ce volume est convertie pour obtenir la dose en Gy. La simulation est arrêtée lorsque la dose D définie a été atteinte dans le volume macroscopique.

Ensuite, l'énergie spécifique a été cumulée dans les différents noyaux cellulaires, deux à deux, et de manière à ce que les noyaux dont les énergies sont sommées, soient suffisamment éloignés pour s'assurer de la superposition de traces indépendantes. Ainsi, l'énergie spécifique totale a pu être augmentée afin d'évaluer les grandeurs microdosimétriques pour des doses supérieures (0,5, 1 et 2 Gy) sans avoir à lancer de nouvelles simulations. Cela permet ainsi un gain de temps de calcul mais également, d'éviter d'obtenir des fichiers de sortie trop volumineux compte tenu de la quantité d'informations recueillies. Néanmoins, cette méthode entraîne une diminution du nombre de noyaux à chaque étape de sommation, et ne peut donc être appliquée pour des doses beaucoup plus élevées. Par exemple, pour une dose de 2 Gy, nous n'avons plus que 1250 noyaux sur les 10 000 présents initialement. Les distributions de l'énergie spécifique $f(z; D)$ dans la population cellulaire irradiée à une dose de 0,25 Gy pour le 40 kVp, le 220 kVp et le 4 MVp sont représentées en figure 4.7.

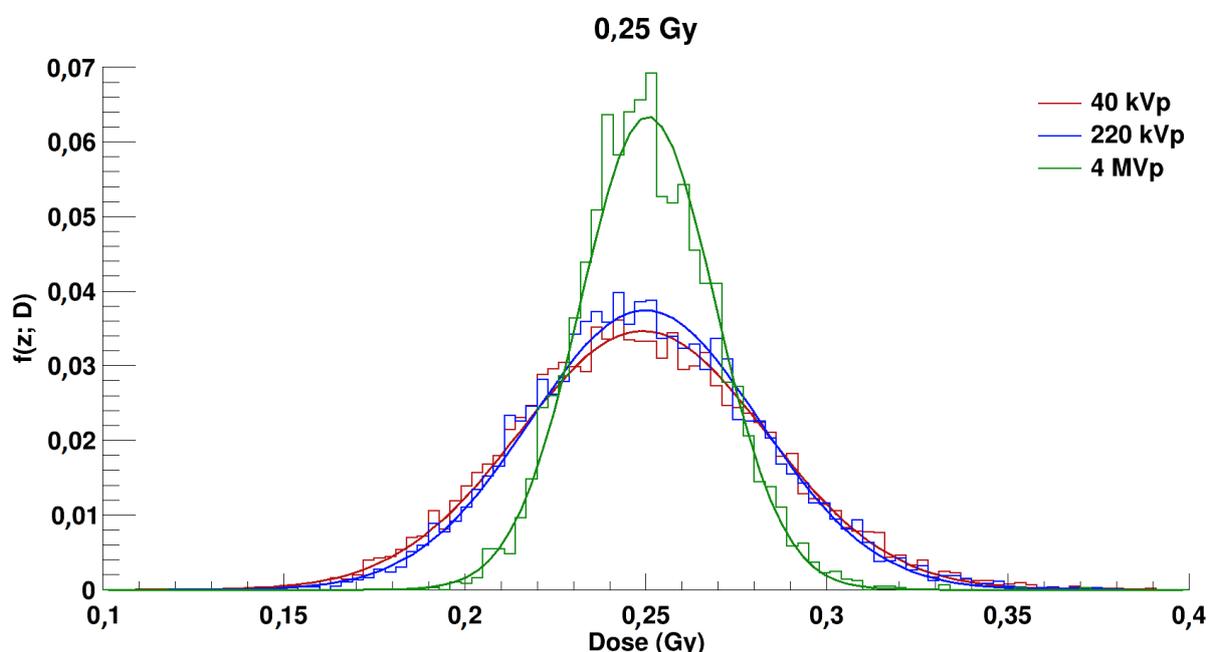


Figure 4.7 : Distributions $f(z; D)$ dans la population cellulaire irradiée à une dose de 0,25 Gy pour le 40 kVp (en rouge), le 220 kVp (en bleu), et le 4 MVp (en vert). Les barres correspondent aux histogrammes obtenus dans les simulations et les courbes en trait plein correspondent aux distributions représentées par une fonction gaussienne.

Dans la figure 4.7, nous pouvons remarquer que les distributions $f(z; D)$ correspondent à des distributions normales centrées en la dose simulée de 0,25 Gy. Les distributions sont similaires entre le 40 et le 220 kVp tandis que la distribution est plus resserrée dans le cas du 4 MVp. Cela s'explique notamment par le fait que l'énergie moyenne déposée par trace d'électron au sein d'un noyau cellulaire est plus faible pour les RX de 4 MVp que ceux de 40 et 220 kVp (1,8 mGy, 1,6 mGy, 0,4 mGy pour le 40 kVp, 220 kVp, et 4 MVp respectivement) étant donné que les électrons résultant des RX de 4 MVp sont plus énergétiques et donc, que leur libre parcours moyen est plus important. Par conséquent, plus de traces sont requises dans le cas du 4 MVp pour obtenir la même dose macroscopique, menant ainsi à une réduction de la dispersion statistique.

La figure 4.8 montre le coefficient de variation σ_z^{rel} calculé à partir de l'équation 4.1 dans les noyaux de cellules endothéliales pour les trois énergies des RX en fonction des doses simulées. Nous pouvons observer dans cette figure que le σ_z^{rel} diminue lorsque la dose augmente, ce qui reflète une amélioration due à la statistique.

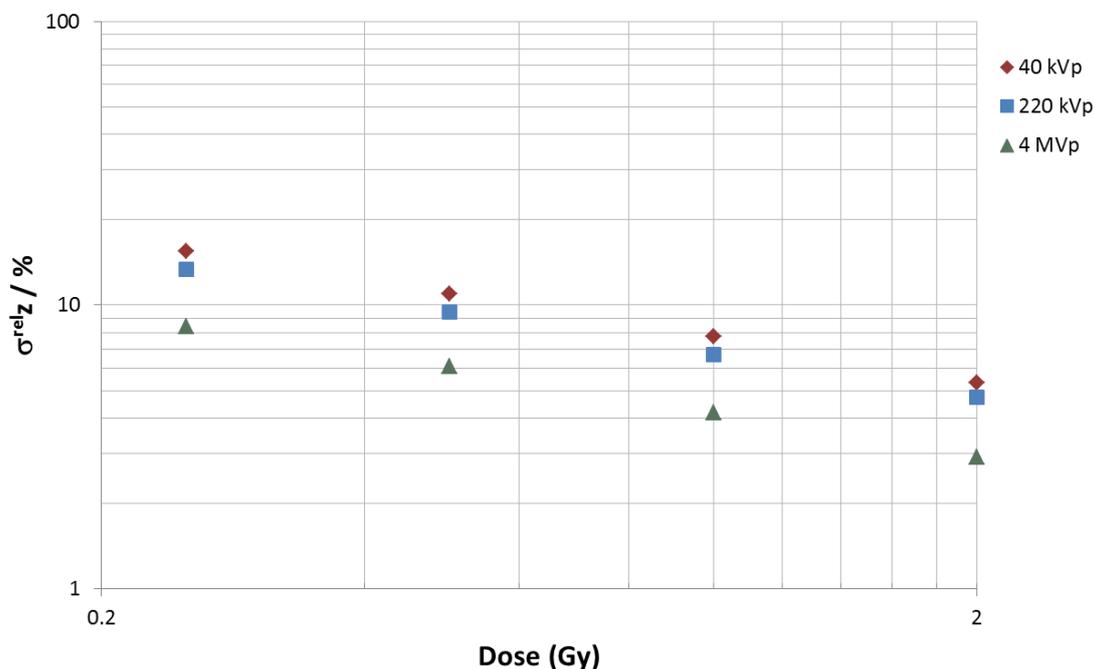


Figure 4.8 : Coefficient de variation σ_z^{rel} (en %) pour le 40 kVp, le 220 kVp et le 4 MVp à 0,25 Gy, 0,5 Gy, 1 Gy et 2 Gy.

De plus, le σ_z^{rel} est similaire entre le 40 kVp et le 220 kVp avec une différence relative restant toujours inférieure à 2% pour les doses considérées. Ce coefficient est néanmoins différent entre le 40/220 kVp et le 4 MVp avec une différence restant inférieure à 7% pour les doses considérées.

4.1.3.2 Calculs nanodosimétriques dans le noyau de cellule endothéliale

En plus de ces résultats sur les spectres microdosimétriques, nous avons voulu étudier si les variations qui peuvent être observées dans les spectres énergétiques dans la figure 4.6 des électrons secondaires pour les RX de 40 kVp, de 220 kVp et de 4 MVp pouvaient éventuellement mener à des différences en termes d'EBR sur un effet biologique ayant son origine à une échelle plus petite, à savoir les dommages à l'ADN. Notamment, les spectres des électrons secondaires sont très semblables entre le 40 kVp et le 220 kVp mais différents de celui du 4 MVp. Cela pourrait induire une EBR similaire entre le 40 et 220 kVp mais une EBR plus élevée pour ces derniers comparés au 4 MVp. L'EBR des électrons pour l'induction des DSBs augmente de manière importante à partir d'énergies inférieures à 10 keV pour atteindre une valeur maximale autour de 5 pour une énergie d'environ 0,5 keV, tandis qu'elle reste constante et proche de 1 pour les électrons ayant une énergie supérieure à 10 keV [NIKJOO et LINDBORG, 2010]. En considérant cela, il devient alors judicieux d'examiner la proportion d'électrons ayant une énergie inférieure à 10 keV. Dans la figure 4.6, nous pouvons clairement observer que la proportion d'électrons de faible énergie (≤ 10 keV) est très similaire entre les RX de 40 et 220 kVp et qu'elle est très inférieure pour le 4 MVp. Cela présage une différence possible dans l'EBR.

Dans ce travail, des calculs nanodosimétriques ont donc été effectués afin d'étudier les dommages à l'ADN induits par les trois énergies de RX. Contrairement aux calculs microdosimétriques, nous nous intéressons maintenant à la distribution des transferts d'énergie le long des traces des particules survenant à l'échelle moléculaire.

De plus, la comparaison des données simulées à des données expérimentales, obtenues à l'IRSN, a pu être réalisée. Ces données expérimentales correspondent au nombre moyen de foyers γ -H2AX par noyau de cellule endothéliale observé 30 minutes après irradiation pour différentes doses : 0,25, 0,5, 1 et 2 Gy. En effet, il est considéré que le nombre de foyers γ -H2AX atteint un maximum 30 minutes après irradiation [GRUEL et al., 2016]. Le nombre de foyers γ -H2AX a été obtenu à partir d'au moins trois expériences identiques (réplicats) pour chaque configuration avec environ 4000 cellules analysées à chaque fois [FRENEAU et al., 2018]. Les erreurs expérimentales correspondent à l'écart-type sur la moyenne.

Nombre de DSB/Gy/Gbp

Pour ces simulations, 10 000 électrons primaires ont été générés dans le cas des irradiations avec les RX de 40 et 220 kVp, et 50 000 pour les RX de 4 MVp dans le but d'obtenir une incertitude statistique (erreur quadratique moyenne) toujours inférieure à 6% sur le nombre de DSBs par trace. Les simulations ont été effectuées en parallèle sur un cluster de calcul et la durée de la simulation complète était de 24-48h.

Les caractéristiques des électrons, c'est-à-dire, leur distance au noyau cellulaire, leur direction et leur énergie cinétique sont dérivées de la première phase de la simulation comme expliqué

précédemment. Parallèlement au calcul des DSBs en utilisant la chaîne de simulation pour déterminer les SBs produits dans les étapes physique et chimique, chaque dépôt d'énergie provenant d'une interaction inélastique de l'électron dans le volume du noyau cellulaire a été cumulé afin d'obtenir l'énergie spécifique z en divisant par la masse du noyau. Enfin, le nombre moyen de DSBs a été divisé par l'énergie spécifique obtenue et par les 6 Gbp contenues dans le noyau afin de calculer le nombre de DSB/Gy/Gbp.

Il faut également noter que deux types de simulations ont été effectuées ; une avec une durée de 2,5 ns puis une deuxième avec 10 ns, bien que les paramètres ne soient pas encore totalement établis pour la durée 10 ns (Cf. Chapitre 3 - Section 3.3.2). Pour chaque configuration, dix simulations ont été effectuées. Les erreurs sur les données simulées correspondent à l'écart-type sur les dix simulations.

Le nombre de DSB/Gy/Gbp simulé et la complexité des DSBs par noyau pour les RX de 40 kVp, 220 kVp et 4 MVp sont présentés dans le tableau 4.2.

Tableau 4.2 : Nombre moyen de DSB/Gy/Gbp simulé et proportions de DSB simple ou complexe par noyau de cellule endothéliale en G0/G1 et pour les RX de 40 kVp, 220 kVp et 4 MVp. Les incertitudes des simulations correspondent à l'écart-type des dix simulations.

Qualité rayonnement	du	RX 40 kVp		RX 220 kVp		RX 4 MVp	
		2,5 ns	10 ns	2,5 ns	10 ns	2,5 ns	10 ns
Simulations							
DSB/Gy/Gbp		3,5 ± 0,3	4,7 ± 0,3	3,5 ± 0,3	4,7 ± 0,2	2,8 ± 0,3	3,6 ± 0,3
DSB simple (en %)		86,0 ± 3,3	86,3 ± 1,8	86,4 ± 2,1	86,2 ± 2,1	87,7 ± 2,9	86,5 ± 2,3
DSB complexe (en %)		14,0 ± 3,3	13,7 ± 1,8	13,6 ± 2,1	13,8 ± 2,1	12,3 ± 2,9	13,5 ± 2,3

Nous pouvons remarquer que l'induction de DSB est équivalente si on considère les RX à 40 et à 220 kVp (3,5 ± 0,3 DSB/Gy/Gbp). En revanche l'induction de DSB est significativement plus faible pour les RX de 4 MVp (2,8 ± 0,3 DSB/Gy/Gbp). Ces résultats sont en bon accord avec les données expérimentales obtenues par Belli et al. [BELLI et al., 1994] qui ont irradié des cellules V79 avec des RX de 200 kVp. En utilisant la technique de sédimentation en gradient de densité, Belli et al. ont mesuré un taux de 3,8 DSB/Gy/Gbp. Nous avons donc observé dans nos simulations, une EBR pour l'induction de DSB de 1,3 pour le 40 ou 220 kVp par rapport au 4 MVp. Cette valeur d'EBR est similaire à celles trouvées dans d'autres travaux [KUHNE et al., 2005 ; KIRKBY et al., 2013] où les valeurs d'EBR pour l'induction de DSB étaient de 1,15 et 1,1 pour des RX de 29 kVp et 125 kVp respectivement, par rapport à du ⁶⁰Co.

Notons également que des variations importantes peuvent être trouvées dans la littérature concernant le nombre de DSB/Gy/cellule comme mentionné par Friedrich et al. [FRIEDRICH et al., 2015] avec des valeurs allant de 10 à 40 DSB/Gy/cellule. Etant donné qu'une cellule humaine contient

environ 6 Gbp, les résultats issus de nos simulations sont équivalents à environ 17-21 DSB/Gy/cellule, ce qui est en bon accord avec les valeurs de la littérature.

Cependant, il se peut que le nombre absolu de DSB/Gy/Gbp soit encore plus élevé dans d'autres études. En effet, dans les simulations effectuées par Friedland et al. [FRIEDLAND et al., 1999], un nombre de $8,8 \pm 1,4$ DSB/Gy/Gbp a été calculé en utilisant des RX de 220 kVp. Néanmoins, une valeur d'EBR pour l'induction des DSB de 1,1 en comparaison avec du ^{60}Co y a été reportée, ce qui concorde avec notre valeur d'EBR de 1,3 lorsque l'on compare des RX de 220 kVp à des RX de 4 MVp.

Néanmoins, soulignons que pour une même finalité biologique d'intérêt et pour un même type de particule, les valeurs d'EBR expérimentales dans la littérature peuvent également présenter une grande variabilité. En général, les valeurs d'EBR entre des RX de 40-250 kVp et des photons de plus haute énergie comme le ^{60}Co se situent entre 1,12 et 1,53 [SINCLAIR, 1962 ; BISTROVIC et al., 1986 ; HOSHI et al., 1988 ; SPADINGER et PALCIC, 1992].

De plus, comme nous avons pu le voir précédemment dans le chapitre 3 (Cf. Section 3.3.1), la méthode de calcul des dommages à l'ADN peut fortement influencer le nombre final de DSB simulé. Il a été notamment mentionné dans la section 3.3.2 du chapitre 3, qu'une durée de la simulation de l'étape chimique de 10 ns devrait être mieux adaptée que la durée de 2,5 ns utilisée actuellement lorsque l'on considère le modèle du noyau cellulaire rempli d'hétérochromatine et d'euchromatine. A des fins exploratoires, les simulations effectuées avec un paramètre de 10 ns ont montré une augmentation des nombres de DSB/Gy/Gbp d'un facteur supérieur à 1,3 par rapport à ceux effectués à 2,5 ns. Bien que la durée de la simulation de l'étape chimique ait été changée, la valeur de l'EBR n'a pas changé et demeure à 1,3 montrant ainsi une augmentation similaire des dommages pour les trois énergies de RX.

Complexité des DSBs

Concernant la complexité des DSBs, elle apparaît similaire entre les différents RX considérés. En effet, comme nous pouvons le remarquer dans le tableau 4.2, les proportions de DSB simple et complexe sont de 86% et 14% respectivement, pour toutes les qualités de rayonnement. Dans une étude de Liang et al. [LIANG et al., 2017], il a été évoqué que la complexité des DSBs augmentait lorsque l'énergie des photons diminuait et qu'elle présentait un maximum autour de 1 keV. Cependant, il a également été mentionné que la complexité des DSBs était similaire pour les RX de faibles énergies de même que pour les rayonnements gamma du ^{60}Co lorsque les dommages aux bases n'étaient pas considérés mais que dans le cas contraire la complexité des DSBs pouvait présenter des différences. Dans ce sens, nous envisageons de considérer les dommages aux bases dans le calcul des dommages à l'ADN dans les prochains travaux afin d'observer les possibles différences dans la complexité des DSBs.

Comparaison des résultats simulés aux données expérimentales

Le nombre moyen de foyers γ -H2AX par noyau 30 minutes après irradiation et la comparaison des résultats simulés avec les données expérimentales pour une dose de 1 Gy pour les RX de 40 kVp, 220 kVp et 4 MVp sont présentés dans le tableau 4.3.

A partir des expériences menées par les radiobiologistes de l'IRSN, nous pouvons observer dans le tableau 4.3, que le nombre moyen de foyers γ -H2AX par noyau 30 minutes après irradiation augmente de manière quasi linéaire avec la dose et ce, pour chaque énergie de RX. Aucune différence significative n'a été observée dans cette étude entre le 40 et le 220 kVp. Néanmoins, des différences significatives ont été observées entre le 40 ou 220 kVp et le 4 MVp pour des doses à partir de 2 Gy [FRENEAU et al., 2018], ce qui est en accord avec nos résultats issus des simulations.

Tableau 4.3 : Résultats obtenus par simulation dans ce travail comparés aux données expérimentales obtenues à l'IRSN [FRENEAU et al., 2018] : nombre expérimental moyen de foyers γ -H2AX par noyau de cellule endothéliale en G0/G1 (30 min post-irradiation), nombre moyen de DSBs par noyau à 2,5 ns ou 10 ns pour une dose de 1Gy, et comparaison avec les données expérimentales à 1 Gy pour les RX de 40 kVp, 220 kVp et 4 MVp. Les incertitudes des simulations correspondent à l'écart-type des dix simulations et les incertitudes expérimentales correspondent à l'écart-type sur la moyenne.

Données expérimentales	RX 40 kVp	RX 220 kVp	RX 4 MVp
Nombre moyen de foyers γ -H2AX par noyau (30 min post-irradiation) [FRENEAU et al., 2018]	0,25 Gy : 5,35 \pm 1,13	0,25 Gy : 7,35 \pm 2,17	0,25 Gy : 4,35 \pm 0,21
	0,5 Gy : 9,88 \pm 0,87	0,5 Gy : 10,24 \pm 1,73	0,5 Gy : 8,54 \pm 1,42
	1 Gy : 18,59 \pm 0,43	1 Gy : 18,64 \pm 2,33	1 Gy : 16,46 \pm 1,63
	2 Gy : 30,30 \pm 2,21	2 Gy : 30,59 \pm 2,96	2 Gy : 26,42 \pm 0,87
Comparaison simu./exp. à 1 Gy	RX 40 kVp	RX 220 kVp	RX 4 MVp
Nombre moyen de DSB par noyau (simu.) à 2,5 ns	21,0 \pm 0,3	21,0 \pm 0,3	16,8 \pm 0,3
Nombre moyen de DSB par noyau (simu.) à 10 ns	28,2 \pm 0,3	28,2 \pm 0,2	21,6 \pm 0,3
Nombre moyen de DSB par noyau (exp.)	18,59 \pm 0,43	18,64 \pm 2,33	16,46 \pm 1,63

Il est également important de noter que le nombre absolu de DSBs par noyau à 1 Gy obtenu par simulation, est toujours légèrement supérieur à celui obtenu expérimentalement (Cf. tableau 4.3) et on se rapproche donc d'un ratio 1 DSB : 1 γ -H2AX [FALK et al., 2010]. Notons tout de même que cette relation n'est pas tout à fait exacte lorsque des rayonnements à haut TEL sont considérés et compte tenu de la taille des foyers γ -H2AX qui est de l'ordre de 0,2 μm^2 [ROTHKAMM et HORN, 2009]. En

effet, dans ce cas, plusieurs DSBs peuvent être contenus à l'intérieur d'un seul et même foyer [TOMMASINO et al., 2015]. Cependant, ce ratio reste plus ou moins exact dans le cas des rayonnements à faible TEL comme les irradiations photon, car les DSBs sont moins proches spatialement [FRIEDLAND et KUNDRAT, 2013].

De plus, comme mentionné précédemment, le nombre de foyers γ -H2AX a été observé 30 minutes post-irradiation. Entre le moment de l'irradiation et l'observation des foyers γ -H2AX, la réparation des DSBs a déjà été initiée et certains foyers ont déjà disparus [FALK et al., 2010]. La cinétique de formation et de disparition des foyers peut également différer selon le niveau de compaction de la chromatine. Falk et al. [FALK et al., 2010] ont même émis l'hypothèse que les DSBs survenant dans l'euchromatine pourraient être réparés sans entraîner la formation de foyers γ -H2AX. Soulignons également que des phénomènes de chevauchement peuvent survenir entre différents foyers ce qui peut poser des problèmes lors de la détection par microscopie [BARBIERI, 2019]. Il se pourrait donc qu'au final, le nombre de foyers soit sous-estimé expérimentalement [GONON et al., 2019]. En prenant en considération ces observations et en regardant de nouveau le tableau 4.3, nous pouvons alors remarquer que le nombre de DSBs simulés par noyau à 2,5 ns semble trop proche du nombre de foyers γ -H2AX qui sous-estime le nombre de DSBs. L'augmentation du nombre de DSB simulé à 10 ns montre alors que ce temps serait mieux adapté dans la simulation pour le calcul des DSBs. Malgré la difficulté concernant la comparaison directe du nombre absolu de DSBs et de foyers γ -H2AX, nous pouvons néanmoins observer que la comparaison relative du nombre de DSBs entre les trois énergies de RX est en bon accord avec celle des γ -H2AX.

4.2 Etude des dommages à l'ADN dans la levure *Saccharomyces cerevisiae* après irradiation avec une source de Césium-137

Dans cette partie du chapitre, nous allons nous intéresser à l'étude des dommages à l'ADN de la levure *Saccharomyces cerevisiae* (*S. cerevisiae*) irradiée avec une source de Césium-137 (^{137}Cs). Ce travail fait l'objet d'une collaboration mise en place entre le Laboratoire de dosimétrie des rayonnements ionisants (LDRI) de l'IRSN, et le Laboratoire des télomères et réparation du chromosome (LTR) du CEA.

4.2.1 Contexte de l'étude

Saccharomyces cerevisiae est un eucaryote unicellulaire souvent utilisé dans les expériences en radiobiologie [FRANKENBERG-SCHWAGER et al., 1980 ; MOSCARIELLO et SUTHERLAND, 2010]. Cette

levure contient dans son noyau haploïde, 12 Mbp répartis en 16 chromosomes dont la majorité du génome est sous la forme d'euchromatine [BARTON et al., 2008]. Dans cette étude, l'équipe du LTR s'intéresse à mieux comprendre les mécanismes de réparation mis en jeu chez *S. cerevisiae* et les causes de la mort cellulaire, a priori principalement dues par les DSBs, après irradiation par une source de ^{137}Cs .

Avant toute chose, quelques notions succinctes des voies de réparation des DSBs seront présentées dans cette section et seront reprises plus en détails au chapitre suivant (Cf. Chapitre 5 - Section 5.1).

Chez *S. cerevisiae*, deux voies majeures de réparation des DSBs existent :

1. La jonction d'extrémités non homologues (en anglais : Non-Homologous End-Joining, NHEJ).
2. La recombinaison homologue (en anglais : Homologous Recombination, HR).

Au cours du cycle cellulaire, ces deux voies de réparations sont régulées [MATHIASSEN et LISBY, 2014]. En effet, la réparation des DSBs via NHEJ a lieu principalement pendant la phase G1 du cycle cellulaire tandis que la réparation via HR a plutôt lieu lors des phases S et G2. La voie de réparation via HR requiert, comme son nom l'indique, une séquence homologue de celle à réparer. Lors d'une cassure ayant lieu dans un chromosome d'une cellule diploïde, la cellule a toujours accès à un homologue et de ce fait, la réparation des DSBs via cette voie peut s'effectuer à n'importe quelle phase du cycle cellulaire. En revanche, pour les cellules haploïdes, une séquence homologue n'est disponible qu'après la phase S et jusqu'à la division nucléaire mais non en phase G1. Par conséquent, en phase G1, une cellule haploïde ne peut pas réparer les DSBs via le HR.

Au contraire, le NHEJ n'a pas besoin d'homologues et peut donc intervenir durant toutes les phases du cycle cellulaire. Nous pouvons donc en déduire que les cellules haploïdes se situant en phase G1 du cycle cellulaire n'ont que cette voie de réparation possible dû au manque d'homologues.

Dans une étude menée par Gao et al. [GAO et al., 2016] de l'Université de Stony Brook, les chercheurs ont utilisé des cellules de levure haploïdes synchronisées en phase G1 du cycle cellulaire. Ils ont cherché à discerner les différences de la sensibilité à l'induction des DSBs entre des levures dites wild-type (WT) ou « normales », et des levures déficientes en NHEJ après irradiation avec du Cobalt-60. Pour cela, les chercheurs se sont basés notamment sur l'étude des courbes de survie cellulaire. Etant donné que les cellules haploïdes ne peuvent recourir à la voie HR en phase G1, les levures déficientes en NHEJ ne devraient donc pas être en capacité de réparer un quelconque DSB. De ce fait, elles devraient être largement sensibles aux dommages radio-induits. Cependant, cette différence de sensibilité entre les levures WT et déficientes en NHEJ s'avère être très variable dans la littérature [SIEDE et al., 1996 ; NUNES et al., 2008 ; BONETTI et al., 2013 ; MAHANEY et al., 2014]. Gao et al. montrent que les études présentant une faible différence dans la sensibilité aux DSBs ne considéraient en réalité, que 90% des cellules en phase G1 et 10% dans les autres phases dû à une synchronisation partielle des cellules. Les 10% de cellules hors de la phase G1 avaient donc encore la possibilité de réparer les DSBs par HR, d'où le peu de différences observées. La méthode employée pour la synchronisation des cellules par Gao et al. leur permis d'obtenir une population de 99% de

cellules haploïdes en phase G1. Ils ont alors observé une grande différence dans la sensibilité aux DSBs avec plus d'un facteur 10 dans la survie cellulaire pour une dose de 200 Gy, ce qui démontre l'importance et l'efficacité du NHEJ dans la réparation.

Afin d'étudier l'efficacité du NHEJ dans la réparation, Gao et al. ont exploré la façon dont les fragments d'ADN issus des DSBs se rejoignent. En effet, un DSB dans un chromosome entraînerait la formation de deux fragments d'ADN qui seraient rejoints par NHEJ, restaurant ainsi le chromosome. En revanche, lorsque plus d'un DSB a lieu dans une cellule, plusieurs fragments d'ADN sont générés et il devient alors plus compliqué de prédire comment se rejoindraient les fragments d'ADN. Dans le cas où les fragments d'ADN sont rejoints de manière aléatoire, plus le nombre de DSBs serait élevé, plus la probabilité que tous les fragments d'ADN se rejoignent correctement serait faible et donc, plus l'apparition d'anomalies chromosomiques serait élevée. Il en résulterait donc une majorité de mort cellulaire due à l'apparition de chromosome acentriques ou dicentriques et les rares cellules survivantes présenteraient alors des anomalies chromosomiques du type translocations réciproques. Dans cette étude, Gao et al. ont analysé les génotypes des cellules survivantes par électrophorèse en champ pulsé après une dose délivrée de 400 Gy, menant à une moyenne de 10,8 DSBs par cellule. Ils ont montré que la fréquence de cellules présentant des anomalies chromosomiques était bien inférieure (plus d'un facteur 6) qu'elle devrait être si les fragments d'ADN étaient rejoints de manière aléatoire. Cela montre ainsi que le NHEJ ne lie pas les fragments d'ADN de manière aléatoire mais qu'il existe un certain mécanisme permettant de maintenir les fragments d'ADN issus d'un même DSB assez proches entre eux afin d'éviter de rejoindre des fragments d'ADN de manière incorrecte.

Bien que la voie de réparation par NHEJ soit importante et efficace, elle peut néanmoins être source d'erreurs compte tenu de l'apparition de quelques anomalies chromosomiques et de la mort cellulaire dans les cellules WT. Des questions se posent alors quant aux imperfections dans le NHEJ ou à la nature des dommages induits par les rayonnements ionisants qui pourraient être responsables de la mort cellulaire.

C'est dans ce contexte que l'équipe du LTR a cherché à comprendre l'origine de ces constatations. En effet, cette équipe s'est intéressée aux courbes de survie cellulaire pour des levures haploïdes en phase G1, WT ou déficientes en NHEJ, irradiées par une source de ^{137}Cs émettant des gammas de 662 keV. Pour une dose de 40 Gy, les chercheurs du LTR ont observé un taux de survie cellulaire de 70% pour les levures WT contre 40% pour les levures déficientes en NHEJ. Cela est en accord avec les travaux de Gao et al. où on observe une différence sur la sensibilité à l'effet de l'irradiation lorsque le NHEJ n'est pas possible ce qui montre donc l'importance du NHEJ dans la réparation des DSBs. Néanmoins, on remarque également que pour les levures WT, 30% des cellules sont mortes pour la dose de 40 Gy. Or, cette dose est relativement faible par rapport aux différentes études portant sur les dommages radio-induits chez *S. cerevisiae* dans la littérature. En effet, pour des irradiations au Cobalt-60 et à cette dose, peu de dommages à l'ADN sont observés dans des levures WT par le test des comètes [NEMAVARKAR et al., 2004]. C'est pour des doses supérieures correspondant à des centaines de Gy que les dommages sont vraiment observables.

Il a donc été montré que la réparation via NHEJ était un mécanisme de réparation majeur et ce, particulièrement pour les cellules haploïdes en phase G1 du cycle cellulaire. De plus, cette voie de réparation semble être efficace en permettant la réparation des différents fragments d'ADN de façon non aléatoire et donc, de rejoindre le plus souvent, les bons bouts d'ADN. Néanmoins, il se peut que la réparation via NHEJ entraîne des anomalies chromosomiques mais leurs fréquences restent relativement faibles. Nous pouvons alors nous demander quelle est la cause de ces 30% de morts cellulaires pour les levures WT à 40 Gy alors que peu de dommages sont observés.

C'est dans ce contexte que j'ai modélisé les dommages radio-induits à *S. cerevisiae* afin de mieux comprendre leur nature. Cela a permis d'apporter des éléments pour vérifier ou écarter certaines hypothèses ou bien même en émettre de nouvelles.

4.2.2 Modèle géométrique du noyau de *S. cerevisiae*

Le noyau de la cellule de levure sous sa forme haploïde a été modélisé par une sphère de rayon égale à 0,86 μm comme représenté dans la figure 4.9. L'ADN contenu chez *S. cerevisiae* étant constitué principalement d'euchromatine [BARTON et al., 2008], seul le modèle d'euchromatine a été utilisé pour remplir le modèle du noyau cellulaire pour un total de 12 Mbp. Le rapport entre le volume d'ADN et le volume du noyau cellulaire, est égal à 0,53%.

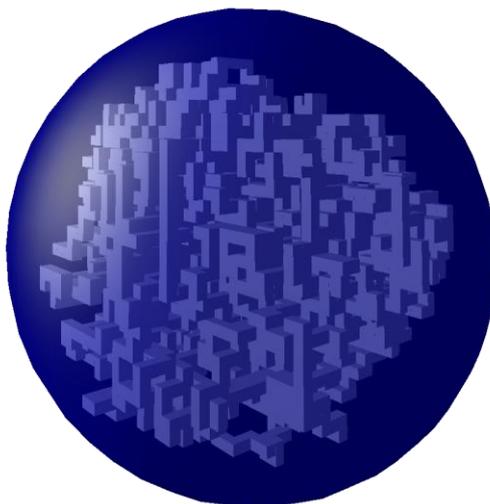


Figure 4.9 : Modèle du noyau de *Saccharomyces cerevisiae* avec son contenu génomique (12 Mbp) représenté par les voxels.

4.2.3 Simulation de la configuration expérimentale de l'irradiation

Les irradiations des cellules de levure ont été effectuées à l'aide d'un irradiateur GSR D1 du CEA illustré dans la figure 4.10. Cet irradiateur comporte un blindage en Plomb qui entoure la chambre

d'irradiation. Cette chambre comprend six niveaux d'irradiation (N1, N2, N3, N4, N5 et N6) sur lesquels repose un plateau d'aluminium dont les dimensions sont de 38 cm x 38 cm et dont l'épaisseur est de 1 cm. Dans le cadre de cette étude, le niveau N3 a été utilisé et correspond à un débit de dose de 2,76 Gy/min en termes de Kerma dans l'air. Précisons que les plaques d'aluminium ne sont alors pas présentes aux niveaux N1, N2, N4, N5 et N6 lors de l'irradiation effectuée en N3. Les sources de ^{137}Cs sont placées au fond de la cuve au niveau du tambour.

L'irradiateur a été modélisé de la manière suivante. Le blindage en plomb de 14 cm d'épaisseur a été pris en compte comme nous pouvons le voir dans la figure 4.11. L'échantillon contenant les cellules a été modélisé de la même manière que dans l'étude présentée en section 4.1 de ce chapitre : une couche de polystyrène de 3 mm de hauteur représentant le support, une couche d'eau de 5 μm représentant la couche de cellules, et une couche d'eau de 3 mm représentant le milieu de culture dans lequel baignent les cellules. L'échantillon repose sur la plaque d'aluminium de 1 cm d'épaisseur. Dans la simulation, cet échantillon est ensuite irradié par des gammas mono énergétiques de 662 keV, issus du ^{137}Cs , qui arrivent par le dessous de la plaque d'aluminium. Les sources de ^{137}Cs se situant à plusieurs dizaines de centimètres de l'échantillon, nous avons alors considéré une irradiation de type parallèle.

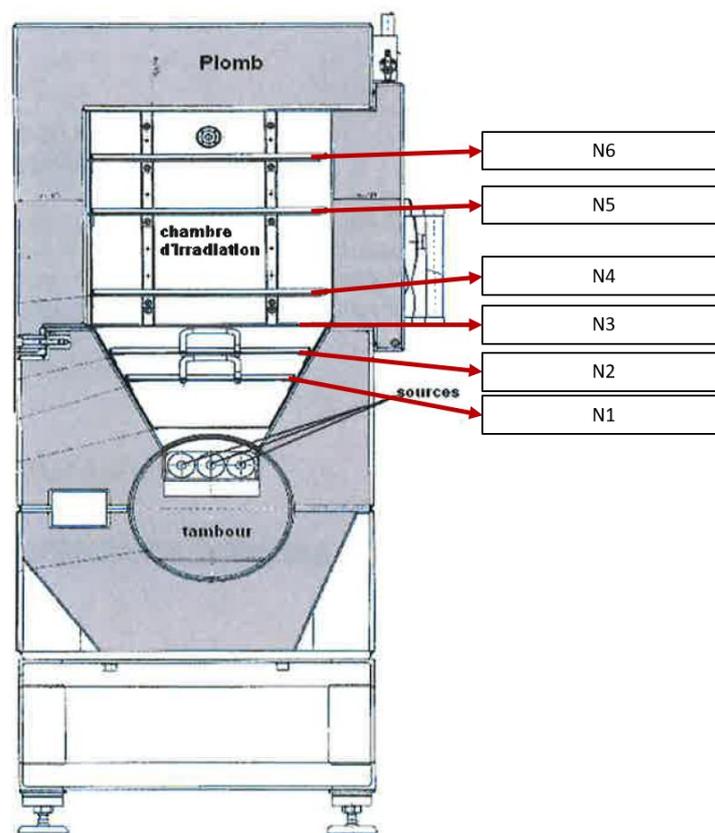


Figure 4.10 : Schéma descriptif de l'irradiateur GSR D1 et ses 6 niveaux d'irradiation utilisé pour les irradiations sur *S. cerevisiae* avec une source de Césium-137.

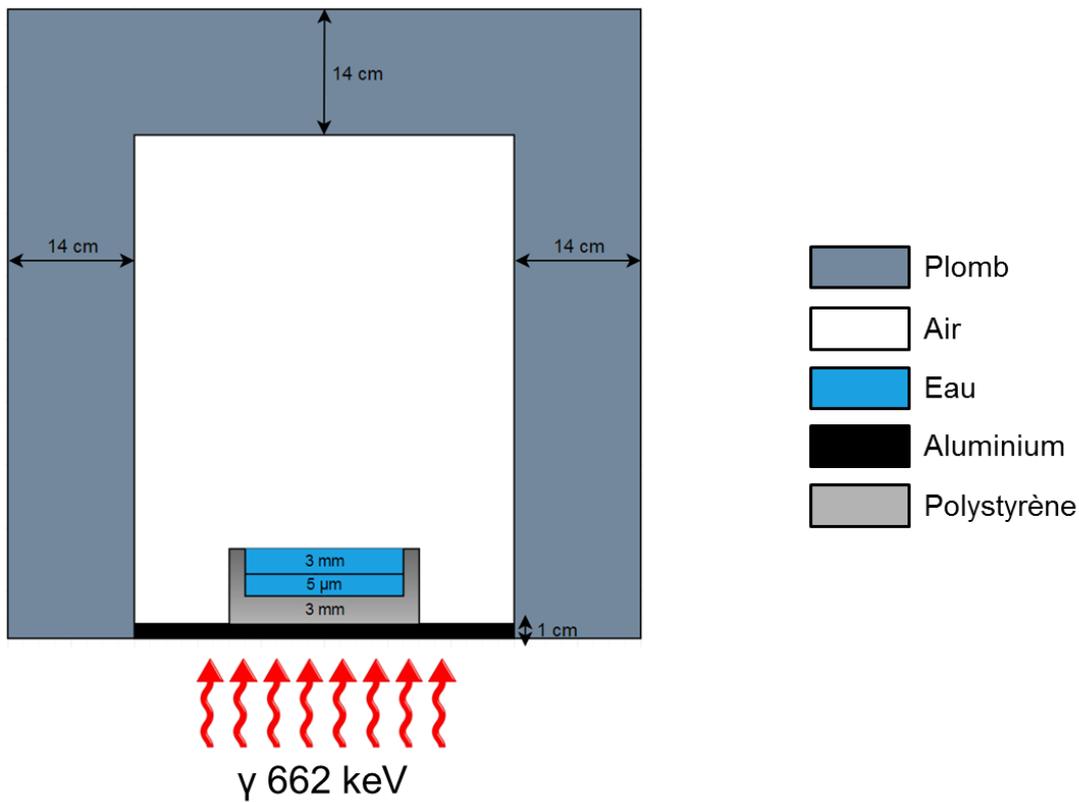


Figure 4.11 : Schéma de la modélisation de l'irradiation de *S. cerevisiae* avec une source de ^{137}Cs .

Espace des phases

Comme indiqué précédemment, la première simulation est utilisée pour le calcul de l'espace des phases des électrons secondaires. Cette première simulation a donc consisté à l'irradiation de l'échantillon par des γ de 662 keV. Ensuite, la position, la direction et l'énergie de tous les électrons créés au niveau de la couche de cellules (couche d'eau de 5 µm d'épaisseur) ont été enregistrées dans un fichier d'espace des phases. L'énergie moyenne des électrons secondaires dans la couche de cellules est de 164 keV. Le spectre des électrons secondaires est présenté dans la figure 4.12.

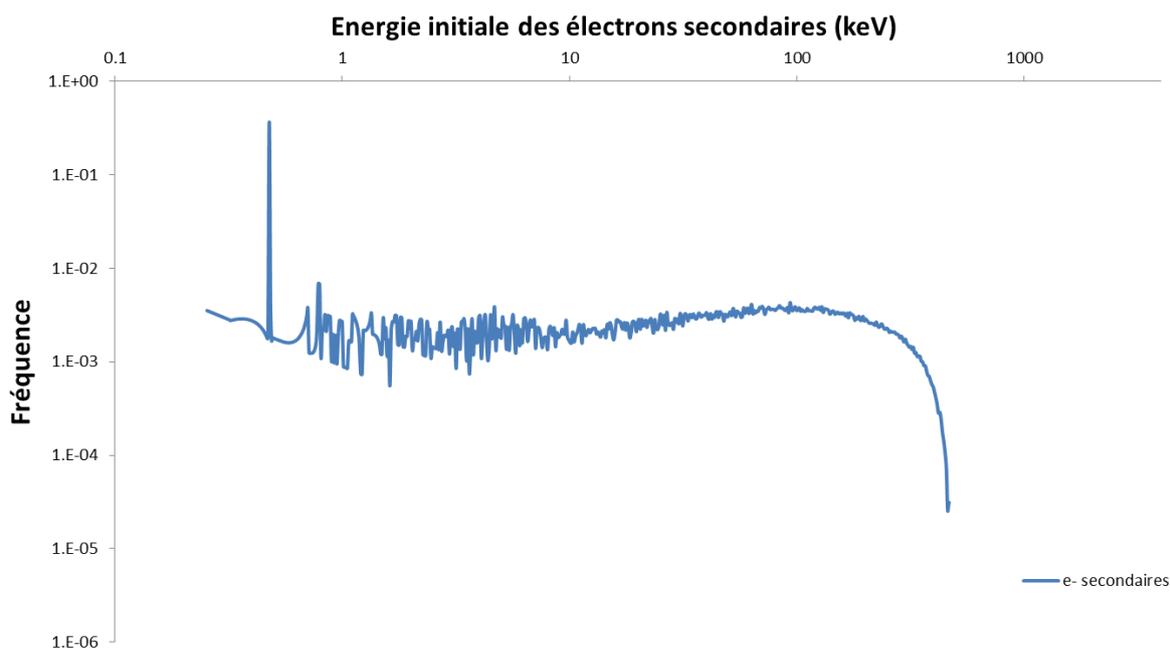


Figure 4.12 : Spectre des électrons secondaires au niveau de la couche de cellules.

Le fichier de l'espace des phases est ensuite utilisé dans la seconde simulation où l'on va s'intéresser à un seul noyau de levure afin de calculer les dommages à l'ADN. Les coordonnées en x-y des électrons présents dans ce fichier ont été contraintes aux dimensions du noyau de *S. cerevisiae* (rayon 0,86 μm) compte tenu du fait que l'irradiation s'effectue de manière homogène.

4.2.4 Nombre de DSBs simulés par Gray et par cellule et complexité des DSBs

Les résultats obtenus par simulation ont montré un nombre de 0,047 DSB/Gy/cellule avec une incertitude de 13% sur la moyenne. Ce nombre est en bon accord avec la littérature et notamment avec l'étude expérimentale menée par Löbrich et al. [LOBRICH et al., 1993] où un nombre de 0,064 DSB/Gy/cellule a été observé après irradiation de *S. cerevisiae* avec des RX de 80 kVp. Notons également qu'il est attendu que le nombre de DSB/Gy/cellule soit plus élevé pour une irradiation RX de 80 kVp par rapport à une irradiation avec du ^{137}Cs , compte tenu de l'énergie plus élevée des photons du ^{137}Cs .

Pour une dose de 40 Gy, cela résulterait en moyenne à environ 2 DSBs par levure. Cela montre, encore une fois, un bon accord avec les données de la littérature comme par exemple avec les données du test des comètes à 40 Gy de Nemavarkar et al. [NEMAVARKAR et al., 2004] vues précédemment. Pour une dose de 40 Gy, le nombre de dommages simulés ou expérimentaux ne semble donc pas pouvoir expliquer les 30% de morts cellulaires observés expérimentalement à cette dose.

Nous nous sommes alors intéressés à la proximité des dommages et plus particulièrement à la complexité des DSBs. En effet, il se pourrait que, bien que le nombre de DSBs soit faible, la complexité est telle que les DSBs deviennent difficilement réparables entraînant, par conséquence, la mort cellulaire.

Pour évaluer cette hypothèse, une simulation a été effectuée en générant 10 000 électrons afin d'obtenir une incertitude inférieure à 10% sur le nombre de DSBs par trace pour une dose de 43 Gy. Cela a mené à l'induction d'un seul DSB. Cependant, la simulation a montré que ce DSB n'était qu'un DSB simple composé de seulement deux SBs. Rappelons tout de même que dans les simulations, les dommages aux bases ne sont pour le moment pas pris en compte et qu'ils pourraient influencer la complexité des dommages (Cf. Section 4.1). Néanmoins, compte tenu du nombre de dommages observés, il semblerait que la prise en compte de dommages aux bases n'influence peu voire pas la complexité des dommages.

Les résultats issus des simulations ne peuvent donc pas expliquer directement l'observation des 30% de morts cellulaires lors de l'irradiation des cellules de levures à une dose de 40 Gy. En effet, ni le nombre de DSBs ni leur complexité ne semblent pouvoir justifier une telle constatation. Il se pourrait donc que d'autres facteurs non connus pour le moment soient impliqués dans la mort cellulaire chez *S. cerevisiae*. A cet effet, d'autres expériences et simulations seront effectuées dans le futur afin de tester d'autres hypothèses avec par exemple, les dommages aux organites présents dans la cellule, ainsi que l'amélioration du modèle géométrique du noyau de levure.

4.3 Conclusions du chapitre

Nous avons vu dans ce chapitre que les irradiations de populations cellulaires par des photons n'entraînaient pas forcément de dépôts d'énergie de manière homogène dans toutes les cellules, comme souvent considéré dans la littérature [GRUEL et al., 2016]. En effet, il existe une certaine variabilité intercellulaire de l'énergie reçue. De plus, l'énergie des photons joue un rôle quant à la distribution spatiale des dépôts d'énergie. D'un point de vue microdosimétrique, peu de différences ont été observées entre des photons de 40 kVp et 220 kVp. Cependant, quelques différences ont été observées entre le 40/220 kVp et le 4 MVp au niveau de la dispersion statistique de l'énergie spécifique reçue par noyau cellulaire. De plus, en nanodosimétrie, nous avons mis en évidence que les RX de faibles énergies i.e. 40 kVp et 220 kVp entraînaient plus de DSBs que les RX de 4 MVp pour une EBR égale à 1,3. Ces résultats issus des simulations ont été comparés directement pour la première fois avec les données expérimentales obtenues par les radiobiologistes de l'IRSN. Il a été montré que le nombre de DSBs simulés est en bon accord avec le nombre de foyers γ -H2AX. Ces comparaisons directes entre la simulation et les mesures expérimentales vont notamment permettre d'ajuster les paramètres de la simulation afin de reproduire au mieux, le nombre de DSBs simulés. Cela se retrouve entre autres, dans le choix de la durée de la simulation de l'étape chimique où un

temps de 10 ns semblerait plus adapté pour reproduire le nombre de DSBs. De plus, la formation et la disparition des foyers γ -H2AX selon le niveau de compaction de la chromatine reste encore un sujet de recherche. Les simulations vont donc pouvoir apporter des informations supplémentaires sur la proportion des DSBs dans l'hétérochromatine et dans l'euchromatine.

Le logiciel DnaFabric (Cf. Chapitre 2 - Section 2.1) ainsi que la chaîne de calcul basée sur Geant4-DNA (Cf. Chapitre 2 - Section 2.3) peuvent avoir des applications diverses et de ce fait, permettent d'étudier d'autres questions que celles initialement posées dans le programme ROSIRIS. Afin d'illustrer cela, une étude sur les dommages induits par l'irradiation de la levure *Saccharomyces cerevisiae* avec une source de Césium-137 a été effectuée. Il a été montré que le nombre de dommages pour une dose de 40 Gy est relativement faible avec en moyenne, deux DSBs simples par cellule. Néanmoins, à cette dose-là, les résultats expérimentaux montrent que 30% des cellules meurent malgré leur capacité à réparer les dommages. Il se pourrait donc que d'autres facteurs, autres que le nombre et la complexité des DSBs, soient impliqués dans le processus de mort cellulaire. D'autres pistes seront explorées afin de mieux comprendre ces observations.

Références

- Ballarini, F., et Carante, M. P. (2016). Chromosome aberrations and cell death by ionizing radiation: Evolution of a biophysical model. *Radiation Physics and Chemistry*, 128, 18-25.
<https://doi.org/10.1016/j.radphyschem.2016.06.009>
- Barbieri, S. (2019). *DNA damage by charged and neutral radiation at different spatial and temporal scales: integrating Monte Carlo simulations with in vitro experiments* (Thèse). Université Pavie.
- Barton, A. B., Pekosz, M. R., Kurvathi, R. S., et al. (2008). Meiotic Recombination at the Ends of Chromosomes in *Saccharomyces cerevisiae*. *Genetics*, 179(3), 1221-1235.
<https://doi.org/10.1534/genetics.107.083493>
- Bellamy, M., Puskin, J., Hertel, N., et al. (2015). An empirical method for deriving RBE values associated with electrons, photons and radionuclides. *Radiation Protection Dosimetry*, 167(4), 664-670. <https://doi.org/10.1093/rpd/ncu358>
- Belli, M., Cera, F., Cherubini, R., et al. (1994). DNA double-strand breaks induced by low energy protons in V79 cells. *International Journal of Radiation Biology*, 65(5), 529-536.
<https://doi.org/10.1080/09553009414550621>
- Bistrović, M., Bišćan, M., et Viculin, T. (1986). RBE of 20 kV and 70 kV X-rays determined for survival of V 79 cells. *Radiotherapy and Oncology: Journal of the European Society for Therapeutic Radiology and Oncology*, 7(2), 175-180.
- Bonetti, D., Anbalagan, S., Lucchini, G., et al. (2013). Tbf1 and Vid22 promote resection and non-homologous end joining of DNA double-strand break ends. *The EMBO Journal*, 32(2), 275-289.
<https://doi.org/10.1038/emboj.2012.327>
- Boone, J. M. (1998). Spectral modeling and compilation of quantum fluence in radiography and mammography. In *Medical Imaging 1998: Physics of Medical Imaging* (Vol. 3336, p. 592-601). International Society for Optics and Photonics. <https://doi.org/10.1117/12.317063>
- Durante, M. (2014). New challenges in high-energy particle radiobiology. *The British Journal of Radiology*, 87(1035), 20130626. <https://doi.org/10.1259/bjr.20130626>
- Elsässer, T., et Scholz, M. (2007). Cluster effects within the local effect model. *Radiation Research*, 167(3), 319-329. <https://doi.org/10.1667/RR0467.1>
- Falk, M., Lukasova, E., et Kozubek, S. (2010). Higher-order chromatin structure in DSB induction, repair and misrepair. *Mutation Research*, 704(1-3), 88-100.
<https://doi.org/10.1016/j.mrrev.2010.01.013>
- Frankenberg, D., Brede, H. J., Schrewe, U. J., et al. (2000). Induction of DNA double-strand breaks in mammalian cells and yeast. *Advances in Space Research*, 25(10), 2085-2094.
[https://doi.org/10.1016/S0273-1177\(99\)01066-2](https://doi.org/10.1016/S0273-1177(99)01066-2)
- Frankenberg, D., Kelnhofer, K., Bär, K., et al. (2002). Enhanced Neoplastic Transformation by Mammography X Rays Relative to 200 kVp X Rays: Indication for a Strong Dependence on Photon Energy of the RBEM for Various End Points. *Radiation Research*, 157(1), 99-105.
[https://doi.org/10.1667/0033-7587\(2002\)157\[0099:ENTBMX\]2.0.CO;2](https://doi.org/10.1667/0033-7587(2002)157[0099:ENTBMX]2.0.CO;2)

- Frankenberg-Schwager, M., Frankenberg, D., Blöcher, D., et al. (1980). Repair of DNA Double-Strand Breaks in Irradiated Yeast Cells under Nongrowth Conditions. *Radiation Research*, 82(3), 498-510. <https://doi.org/10.2307/3575316>
- Freneau, A., Dos Santos, M., Voisin, P., et al. (2018). Relation between DNA double-strand breaks and energy spectra of secondary electrons produced by different X-ray energies. *International Journal of Radiation Biology*, 1-10. <https://doi.org/10.1080/09553002.2018.1518612>
- Friedland, W., Bernhardt, P., Jacob, P., et al. (2002). Simulation of DNA Damage after Proton and Low LET Irradiation. *Radiation Protection Dosimetry*, 99(1-4), 99-102. <https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.rpd.a006848>
- Friedland, W., Jacob, P., Paretzke, H. G., et al. (1999). Simulation of DNA fragment distributions after irradiation with photons. *Radiation and Environmental Biophysics*, 38(1), 39-47.
- Friedland, W., et Kundrát, P. (2013). Track structure based modelling of chromosome aberrations after photon and alpha-particle irradiation. *Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis*, 756(1), 213-223. <https://doi.org/10.1016/j.mrgentox.2013.06.013>
- Friedrich, T., Durante, M., et Scholz, M. (2015). Simulation of DSB yield for high LET radiation. *Radiation Protection Dosimetry*, 166(1-4), 61-65. <https://doi.org/10.1093/rpd/ncv147>
- Gao, S., Honey, S., Fitcher, B., et al. (2016). The non-homologous end-joining pathway of *S. cerevisiae* works effectively in G1-phase cells, and religates cognate ends correctly and non-randomly. *DNA repair*, 42, 1-10. <https://doi.org/10.1016/j.dnarep.2016.03.013>
- Göggelmann, W., Jacobsen, C., Panzer, W., et al. (2003). Re-evaluation of the RBE of 29 kV x-rays (mammography x-rays) relative to 220 kV x-rays using neoplastic transformation of human CGL1-hybrid cells. *Radiation and Environmental Biophysics*, 42(3), 175-182. <https://doi.org/10.1007/s00411-003-0210-y>
- Gonon, G., Villagrasa, C., Voisin, P., et al. (2019). From Energy Deposition of Ionizing Radiation to Cell Damage Signaling: Benchmarking Simulations by Measured Yields of Initial DNA Damage after Ion Microbeam Irradiation. *Radiation Research*, 191(6), 566-584. <https://doi.org/10.1667/RR15312.1>
- Gruel, G., Villagrasa, C., Voisin, P., et al. (2016). Cell to Cell Variability of Radiation-Induced Foci: Relation between Observed Damage and Energy Deposition. *PLOS ONE*, 11(1), e0145786. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0145786>
- Hoeschen, C., Fill, U., Zankl, M., et al. (2005). A high-resolution voxel phantom of the breast for dose calculations in mammography. *Radiation Protection Dosimetry*, 114(1-3), 406-409. <https://doi.org/10.1093/rpd/nch558>
- Hoshi, M., Antoku, S., Nakamura, N., et al. (1988). Soft X-ray dosimetry and RBE for survival of Chinese hamster V79 cells. *International Journal of Radiation Biology*, 54(4), 577-591.
- Kellerer, A. M. (2002). Electron Spectra and the RBE of X Rays. *Radiation Research*, 158(1), 13-23. [https://doi.org/10.1667/0033-7587\(2002\)158\[0013:ESATRO\]2.0.CO;2](https://doi.org/10.1667/0033-7587(2002)158[0013:ESATRO]2.0.CO;2)
- Kirkby, C., Ghasroddashti, E., Poirier, Y., et al. (2013). RBE of kV CBCT radiation determined by Monte Carlo DNA damage simulations. *Physics in Medicine and Biology*, 58(16), 5693-5704. <https://doi.org/10.1088/0031-9155/58/16/5693>

- Kühne, M., Urban, G., Frankenberg, D., et al. (2005). DNA Double-Strand Break Misrejoining after Exposure of Primary Human Fibroblasts to CK Characteristic X Rays, 29 kVp X Rays and 60Co γ Rays. *Radiation Research*, 164(5), 669-677. <https://doi.org/10.1667/RR3461.1>
- Lehnert, A., Dörr, W., Lessmann, E., et al. (2008). RBE of 10 kV X rays determined for the human mammary epithelial cell line MCF-12A. *Radiation Research*, 169(3), 330-336. <https://doi.org/10.1667/RR0874.1>
- Liang, Y., Fu, Q., Wang, X., et al. (2017). Relative biological effectiveness for photons: implication of complex DNA double-strand breaks as critical lesions. *Physics in Medicine and Biology*, 62(6), 2153-2175. <https://doi.org/10.1088/1361-6560/aa56ed>
- Löbrich, M., Ikpeme, S., Haub, P., et al. (1993). DNA Double-strand Break Induction in Yeast by X-rays and α -particles Measured by Pulsed-field Gel Electrophoresis. *International Journal of Radiation Biology*, 64(5), 539-546. <https://doi.org/10.1080/09553009314551751>
- Mahaney, B. L., Lees-Miller, S. P., et Cobb, J. A. (2014). The C-terminus of Nej1 is critical for nuclear localization and non-homologous end-joining. *DNA Repair*, 14, 9-16. <https://doi.org/10.1016/j.dnarep.2013.12.002>
- Mathiasen, D. P., et Lisby, M. (2014). Cell cycle regulation of homologous recombination in *Saccharomyces cerevisiae*. *FEMS Microbiology Reviews*, 38(2), 172-184. <https://doi.org/10.1111/1574-6976.12066>
- Mestres, M., Benkhaled, L., Caballín, M. R., et al. (2010). Induction of Incomplete and Complex Chromosome Aberrations by 30 kVp X Rays. *Radiation Research*, 175(2), 201-208. <https://doi.org/10.1667/RR2183.1>
- Moscariello, M., et Sutherland, B. (2010). *Saccharomyces cerevisiae*-based system for studying clustered DNA damages. *Radiation and Environmental Biophysics*, 49(3), 447-456. <https://doi.org/10.1007/s00411-010-0303-3>
- Nemavarkar, P. S., Chourasia, B. K., et Pasupathy, K. (2004). Detection of gamma-irradiation induced DNA damage and radioprotection of compounds in yeast using comet assay. *Journal of Radiation Research*, 45(2), 169-174. <https://doi.org/10.1269/jrr.45.169>
- Nikjoo, H., et Lindborg, L. (2010). RBE of low energy electrons and photons. *Physics in Medicine and Biology*, 55(10), R65-109. <https://doi.org/10.1088/0031-9155/55/10/R01>
- Nunes, E., Candreva, E., Bracesco, N., et al. (2008). HDF1 and RAD17 genes are involved in DNA double-strand break repair in stationary phase *Saccharomyces cerevisiae*. *Journal of Biological Physics*, 34(1-2), 63-71. <https://doi.org/10.1007/s10867-008-9105-0>
- Poludniowski, G. G. (2007). Calculation of x-ray spectra emerging from an x-ray tube. Part II. X-ray production and filtration in x-ray targets. *Medical Physics*, 34(6Part1), 2175-2186. <https://doi.org/10.1118/1.2734726>
- Poludniowski, G. G., et Evans, P. M. (2007). Calculation of x-ray spectra emerging from an x-ray tube. Part I. Electron penetration characteristics in x-ray targets. *Medical Physics*, 34(6Part1), 2164-2174. <https://doi.org/10.1118/1.2734725>
- Poludniowski, G., Landry, G., DeBlois, F., et al. (2009). SpekCalc: a program to calculate photon spectra from tungsten anode x-ray tubes. *Physics in Medicine and Biology*, 54(19), N433-N438. <https://doi.org/10.1088/0031-9155/54/19/N01>

- Prise, K. M., Pinto, M., Newman, H. C., et al. (2001). A Review of Studies of Ionizing Radiation-Induced Double-Strand Break Clustering. *Radiation Research*, 156(5), 572-577.
[https://doi.org/10.1667/0033-7587\(2001\)156\[0572:AROSOI\]2.0.CO;2](https://doi.org/10.1667/0033-7587(2001)156[0572:AROSOI]2.0.CO;2)
- Rothkamm, K., et Horn, S. (2009). gamma-H2AX as protein biomarker for radiation exposure. *Annali Dell'Istituto Superiore Di Sanita*, 45(3), 265-271.
- Schmid, E., Regulla, D., Kramer, H.-M., et al. (2002). The Effect of 29 kV X Rays on the Dose Response of Chromosome Aberrations in Human Lymphocytes. *Radiation Research*, 158(6), 771-777.
[https://doi.org/10.1667/0033-7587\(2002\)158\[0771:TEOKXR\]2.0.CO;2](https://doi.org/10.1667/0033-7587(2002)158[0771:TEOKXR]2.0.CO;2)
- Sheikh-Bagheri, D., et Rogers, D. W. O. (2002). Monte Carlo calculation of nine megavoltage photon beam spectra using the BEAM code. *Medical Physics*, 29(3), 391-402.
<https://doi.org/10.1118/1.1445413>
- Siede, W., Friedl, A. A., Dianova, I., et al. (1996). The Saccharomyces cerevisiae Ku autoantigen homologue affects radiosensitivity only in the absence of homologous recombination. *Genetics*, 142(1), 91-102.
- Sinclair, W. K. (1962). The relative biological effectiveness of 22-Mevp x-rays, cobalt-60 gamma rays, and 200-Kvcp x-rays. VII. Summary of studies for five criteria of effect. *Radiation Research*, 16, 394-398.
- Stonina, D., Spekl, K., Panteleeva, A., et al. (2003). Induction of micronuclei in human fibroblasts and keratinocytes by 25 kV x-rays. *Radiation and Environmental Biophysics*, 42(1), 55.
<https://doi.org/10.1007/s00411-003-0177-8>
- Sommat, K., Yit, N. L. F., et Kwok, L.-L. (2017). Comparison between 4-MV and 6-MV radiotherapy in T1N0 glottic cancer. *The Laryngoscope*, 127(5), 1061-1067.
<https://doi.org/10.1002/lary.26067>
- Spadinger, I., et Palcic, B. (1992). The relative biological effectiveness of 60Co gamma-rays, 55 kVp X-rays, 250 kVp X-rays, and 11 MeV electrons at low doses. *International Journal of Radiation Biology*, 61(3), 345-353.
- Tommasino, F., Friedrich, T., Jakob, B., et al. (2015). Induction and Processing of the Radiation-Induced Gamma-H2AX Signal and Its Link to the Underlying Pattern of DSB: A Combined Experimental and Modelling Study. *PLOS ONE*, 10(6), e0129416.
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0129416>

Chapitre 5 - Extension de la simulation vers les effets biologiques tardifs

Sommaire

5.1 Les voies de réparation des dommages à l'ADN.....	167
5.1.1 Jonction d'extrémités non-homologues (NHEJ).....	167
5.1.2 Recombinaison homologue (HR).....	168
5.1.3 Choix entre NHEJ et HR.....	170
5.2 Les modèles d'extension vers les effets tardifs.....	171
5.2.1 Modèles historiques.....	172
5.2.2 Modèles paramétriques.....	176
5.2.2.1 Le « Two-lesion kinetic model » (TLK).....	176
5.2.2.2 Le « Local effect model » (LEM).....	178
5.2.2.3 Le « Microdosimetric kinetic model » (MKM).....	183
5.2.3 Modèles mécanistiques.....	185
5.2.3.1 PARTRAC.....	186
5.2.3.2 Modèle de Taleei et al.....	188
5.2.3.3 BIANCA (Biophysical analysis of cell death and chromosome aberrations).....	189
5.2.3.4 Modèle de McMahon et al.....	190
5.3 Choix des modèles paramétriques : application du LEM IV et du modèle TLK.....	191
5.3.1 Application du LEM IV pour la cinétique de réparation des DSBs.....	192
5.3.2 Application du modèle TLK pour le calcul des courbes de survie cellulaire.....	197
5.4 Conclusions du chapitre.....	200
Références.....	202

Suite à l'induction de dommages à l'ADN, différents processus de réparation comprenant des réactions enzymatiques vont être mis en place. Ces phénomènes biochimiques sont très complexes car ils impliquent de très nombreux facteurs (protéines, enzymes, dynamique de la chromatine, phase du cycle cellulaire etc.) et font encore l'objet d'études [WANG et al., 2019]. Nous commencerons dans ce chapitre, par présenter de manière générale, les principales voies de réparation des dommages à l'ADN et en particulier, de la réparation des DSBs radio-induits. Puis, nous nous intéresserons à plusieurs modèles visant à déterminer le lien entre les DSBs et le devenir cellulaire (réparation de l'ADN, aberrations chromosomiques, mort cellulaire...). Enfin, nous présenterons la possible utilisation de certains de ces modèles à partir de résultats correspondants aux DSBs issus des simulations avec la chaîne de calcul basée sur Geant4-DNA.

5.1 Les voies de réparation des dommages à l'ADN

Chez les mammifères, différents mécanismes de réparation sont mis en place lors de l'induction de dommages à l'ADN comme par exemple, l'excision de bases (BER) ou de nucléotides (NER), et la réparation des mésappariements (MMR). Lorsque l'on s'intéresse particulièrement à la réparation des cassures double-brins, deux mécanismes distincts sont principalement impliqués (Cf. Chapitre 4 - Section 4.2) : la jonction d'extrémités non-homologues (NHEJ) [ROTHKAMM et al., 2003] et la recombinaison homologue (HR) [KARANAM et al., 2012]. Nous allons donc nous intéresser plus particulièrement à ces deux voies de réparation.

5.1.1 Jonction d'extrémités non-homologues (NHEJ)

La jonction d'extrémités non-homologues constitue la voie majeure de réparation des DSBs chez les mammifères et peut avoir lieu durant toute la phase du cycle cellulaire puisqu'elle ne nécessite pas de séquence homologue. Cette voie de réparation est schématisée dans la figure 5.1. Lors de l'induction d'un DSB, le site du dommage est reconnu par un complexe de protéines appelé Ku70/Ku80 qui vient se fixer au niveau des extrémités des fragments d'ADN. L'hétérodimère Ku70/Ku80 permet ensuite de recruter d'autres protéines impliquées dans le NHEJ comme les DNA-PKcs (sous-unités catalytiques de la protéine-kinase ADN dépendante). Cet ensemble nommé DNA-PK permet ainsi le maintien et la protection des extrémités d'ADN mais également le recrutement d'autres protéines du NHEJ comme Artemis, Ligase IV, XRCC et Cernunnos (XLF). Les DNA-PKcs permettent la phosphorylation de la protéine Artemis, lui conférant ainsi une activité exo- et endonucléase. Grâce à cela, Artemis peut alors « nettoyer » les extrémités d'ADN en coupant les nucléotides avant la ligation. Ensuite, les extrémités de l'ADN fragmenté sont jointes par le complexe Ligase IV/XRCC4/Cernunnos (XLF) sans pour autant restaurer la séquence perdue lors de la cassure. De ce fait, le NHEJ peut être source d'erreurs et ne constitue pas une voie de réparation conservative.

Soulignons qu'il existe des voies de réparation alternatives du NHEJ « classique » (appelé C-NHEJ ou D-NHEJ) impliquant le MMEJ (Microhomology-mediated end joining) comme le NHEJ alternatif (communément nommé A-NHEJ ou B-NHEJ). Ces voies de réparation alternatives sont sources d'erreurs et sont fréquemment associées à la formation d'aberrations chromosomiques [MCVEY et LEE, 2008]. Le C-NHEJ (D-NHEJ) est reconnu comme ayant une cinétique de réparation rapide (demi-vie de réparation d'environ 10-30 minutes) tandis que le A-NHEJ (B-NHEJ) a une cinétique beaucoup plus lente (demi-vie de réparation de 2 à 10 heures) [ILIAKIS et al., 2004].

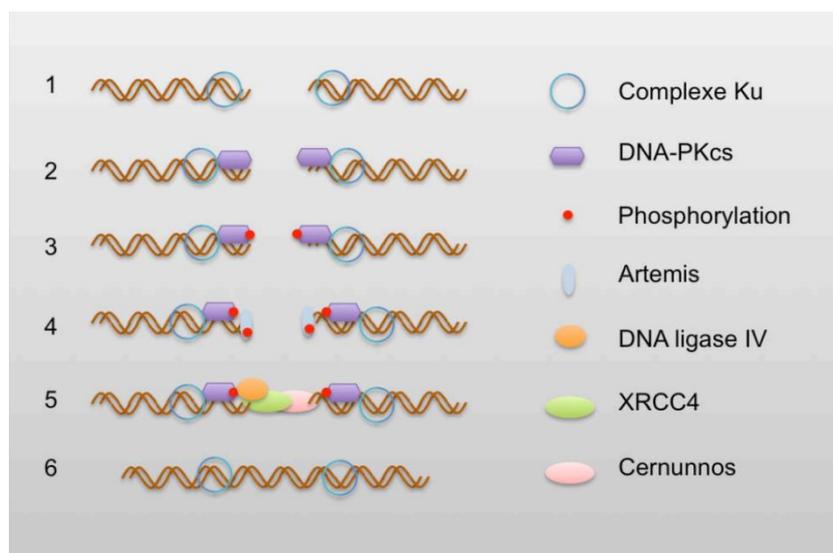


Figure 5.1 : Schéma représentant la réparation d'un DSB via le NHEJ [KALTENBACH, 2015].

Très récemment, Löbrich et Jeggo [LOBRICH et JEGGO, 2017] ont mis en évidence une sous-voie du C-NHEJ impliquant Artemis et une résection des extrémités d'ADN, appelée alors « Resection-dependent C-NHEJ », qui possède une cinétique de réparation lente.

5.1.2 Recombinaison homologue (HR)

La recombinaison homologue utilise, comme son nom l'indique, une séquence d'ADN homologue à celle qui a été endommagée comme matrice de réparation. Par conséquent, cette voie de réparation n'a lieu que durant les phases S et G2 du cycle cellulaire lorsque l'ADN a déjà été répliqué. L'utilisation de chromatides homologues permet de qualifier la recombinaison homologue comme étant une réparation fidèle [KARANAM et al., 2012].

La réparation par HR est initiée par une résection d'ADN simple-brin qui est effectuée par le complexe protéique MRN (Mre11/RAD50/Nbs1). Suite à la résection, l'extrémité simple brin formée est alors protégée par la protéine RPA (Replication Protein A). Ensuite, RPA est remplacée par une autre protéine, Rad51. Le filament de nucléoprotéine Rad51 permet de trouver une séquence homologue ainsi que l'initiation de l'appariement et l'invasion du brin de la chromatide homologue par les

polymérase formant ainsi une boucle en D (D loop). La synthèse des séquences d'ADN peut ensuite avoir lieu et plusieurs sous-voies possibles peuvent être empruntées comme représenté dans la figure 5.2 [STAFSA et al., 2014] :

- Le SDSA (Synthesis-dependent strand annealing) : la boucle se dissocie et se réhybride avec l'ADN complémentaire. La brèche est ensuite comblée et les extrémités ligaturées. La recombinaison homologue est alors effectuée sans échange de brins.
- Le DSBR (Double-strand break repair) : l'invasion de brin s'accompagne de la formation de doubles jonctions de Holliday (dHJ). Ces jonctions sont ensuite résolues avec (crossover) ou sans échange de brins (non crossover).
- Le BIR (Break-induced replication) : certains DSBs peuvent se terminer par un ADN simple brin. Cette partie d'ADN simple brin va alors envahir une séquence homologue et il n'y a pas de crossover.

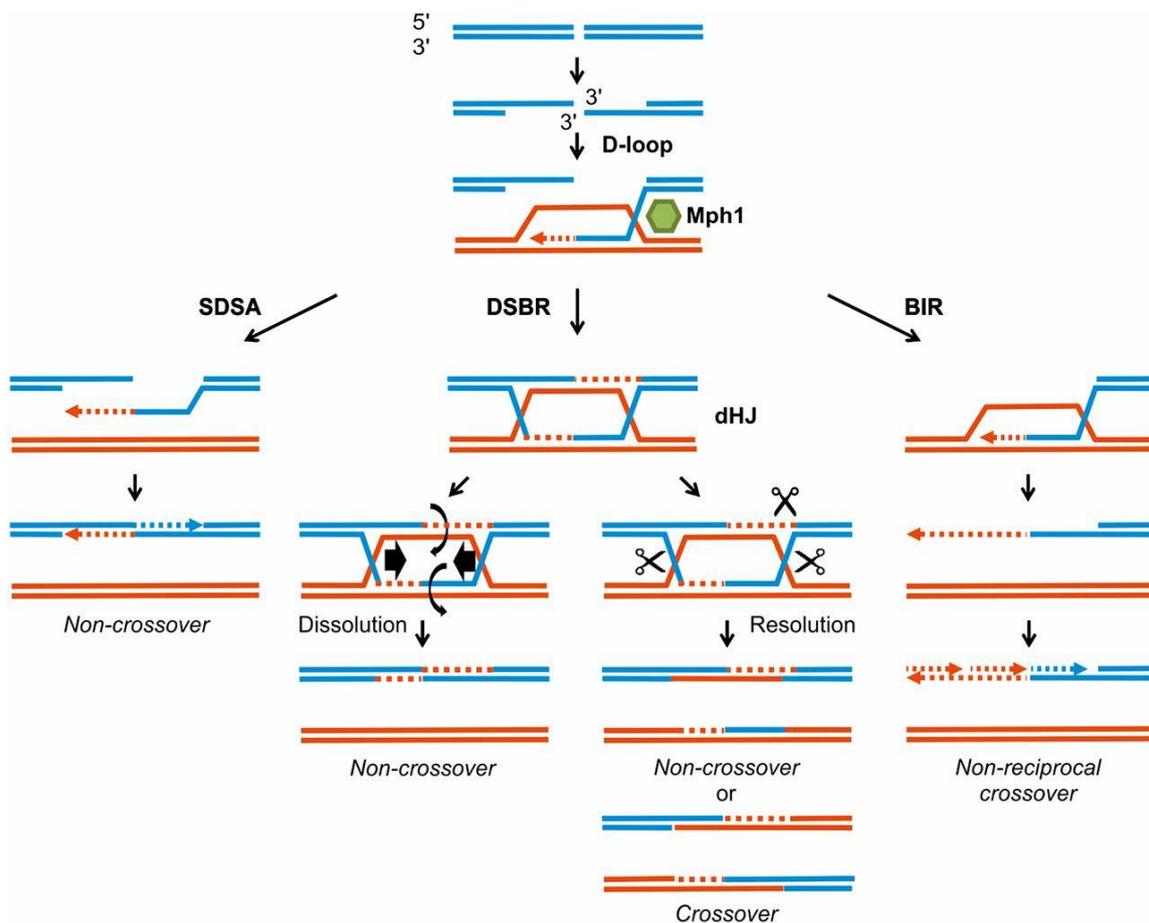


Figure 5.2 : La réparation par recombinaison homologue [STAFSA et al., 2014].

Notons également qu'il existe une autre voie de réparation beaucoup moins fréquente nommée SSA (Single-strand annealing) [HEYER et al., 2010]. Ce mécanisme peut intervenir lorsque les DSBs sont produits entre deux séquences répétées. Après résection, il n'y a alors pas d'invasion de séquence homologue et la réparation se fait par hybridation simple brin.

En général, la réparation via HR possède une cinétique plus lente par rapport au NHEJ [BRANDSMA et GENT, 2012].

5.1.3 Choix entre NHEJ et HR

Différents facteurs sont impliqués dans le choix de la voie de réparation (NHEJ ou HR) des dommages à l'ADN comme la phase du cycle cellulaire, la complexité des dommages à l'ADN, le niveau de compaction de la chromatine et la présence de certaines protéines.

Phase du cycle cellulaire

Nous avons vu que selon la phase du cycle cellulaire, une des deux voies majeures de réparation sera utilisée. La voie de réparation par NHEJ sera privilégiée en phase G0/G1 tandis que la recombinaison homologue peut être utilisée dans les phases S et G2 [BRANDSMA et GENT, 2012]. Que ce soit en phase G1 ou G2, la réparation des dommages chez les cellules de mammifères présente deux cinétiques, une rapide et une lente comme représenté dans la figure 5.3. La composante rapide correspond à la voie du C-NHEJ (en rouge) qui répare la majorité des DSBs. En G1, la composante lente met en jeu le C-NHEJ dépendant de la nucléase Artemis et de la résection (en bleu hachuré) tandis qu'en G2, elle correspond à la voie du HR (en bleu) [LOBRICH et JEGGO, 2017]. Comme nous pouvons le voir dans la figure 5.3, la composante lente en G2 est elle-même plus lente que celle en G1.

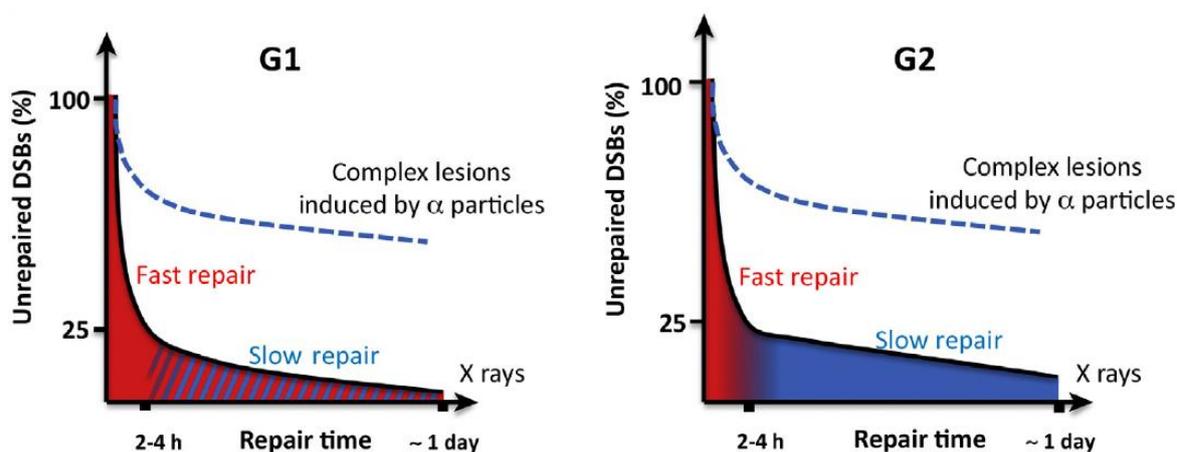


Figure 5.3 : Les deux cinétiques de réparation (rapide et lente) des DSBs chez les cellules de mammifères en fonction de la phase du cycle cellulaire. Les DSBs sont réparés avec une cinétique rapide par le C-NHEJ en G1 et G2 (en rouge). La réparation lente est effectuée en G1 par le C-NHEJ dépendant d'Artemis et de la résection (en bleu hachuré) tandis qu'elle implique en G2 la recombinaison homologue (en bleu) [LOBRICH et JEGGO, 2017].

Complexité des dommages

Un des autres facteurs déterminant le choix du NHEJ ou du HR est la complexité des dommages. En effet, après irradiation durant la phase G2 par des rayonnements à haut TEL générant des DSBs complexes, il a été montré que le HR est principalement utilisé pour la réparation, bien que la réparation via NHEJ ou via HR soient toutes deux possibles. Au contraire, après irradiation à bas TEL, le NHEJ est majoritairement utilisé [BRANDSMA et GENT, 2012].

Niveau de compaction de la chromatine

Nous avons introduit au chapitre 3 (Cf. Section 3.3.1) que l'hétérochromatine réduirait l'efficacité de la réparation de l'ADN en constituant en quelque sorte, une barrière physique [FALK et al., 2010] par rapport à l'euchromatine. Cela implique notamment, la relocalisation des DSBs à la périphérie des régions d'hétérochromatine ainsi qu'une décondensation avant de pouvoir effectuer la réparation [MURRAY et al., 2012]. La réparation est de ce fait, plus lente dans les régions d'hétérochromatine que dans les régions d'euchromatine. Il semblerait que les DSBs induits dans les régions d'hétérochromatine soient préférentiellement réparés via HR et que ceux localisés dans l'euchromatine soient facilement réparés par NHEJ [MURRAY et al., 2012].

Protéines

La présence de certaines protéines va également influencer le choix de la voie de réparation. En effet, plusieurs protéines comme par exemple, ATM, Artemis, et le complexe MRN vont favoriser la réparation lente des dommages à l'ADN via la recombinaison homologue, tandis que des protéines comme 53BP1 vont promouvoir la réparation rapide via C-NHEJ [BRANDSMA et GENT, 2012].

5.2 Les modèles d'extension vers les effets tardifs

Dans cette section du chapitre, une revue des différents modèles publiés dans la littérature permettant le calcul des effets cellulaires « tardifs » (quelques minutes-heures après irradiation) est effectuée. Nous commencerons d'abord par introduire les premiers modèles « historiques » qui avaient pour but d'expliquer les phénomènes de mort cellulaire et qui sont toujours utilisés actuellement en radiobiologie ou en radiothérapie. Puis, de nouveaux modèles ont vu le jour afin de mieux rendre compte du lien entre les dommages précoces à l'ADN et d'autres réponses biologiques comme la réparation de l'ADN, la formation d'aberrations chromosomiques ou la mort cellulaire. Ces modèles récemment développés seront classés dans cette section selon la méthodologie employée

qui correspond généralement, soit à une simulation mécanistique des processus mis en jeu, soit à l'utilisation de paramètres intégrés dans des équations mathématiques pour refléter ces processus.

5.2.1 Modèles historiques

Dans cette partie, la description succincte des modèles historiques repose principalement sur la revue effectuée par Bodgi et al. [BODGI et al., 2016]. Le lecteur est alors invité à s'y référer pour obtenir plus de détails.

Entre les années 1920 et 1950, la plupart des modèles de survie cellulaire étaient directement dérivés de la « target theory » comme les modèles « single-target single-hit » (STSH) [LEA, 1946], « n-targets single-hit », « n-hits n-targets » incluant le modèle (n, D_0) de Elkind et Whitmore [ELKIND et WHITMORE, 1967]. Le modèle (n, D_0) a beaucoup été utilisé entre les années 1950 et 1980 mais n'arrivait pas à bien reproduire l'épaule initial des courbes de survie cellulaire. La limite de ces différents modèles réside dans le fait qu'ils ne prennent pas en compte la réparation des dommages à l'ADN et supposent alors, que la survie cellulaire provient uniquement de l'absence de coups (hits) dans des zones dites « sensibles » des cellules. Ces modèles peuvent être plus ou moins adaptés pour les études sur les micro-organismes mais deviennent rapidement non pertinents pour d'autres espèces comme les cellules de mammifères. En effet, compte tenu de la taille des cellules de micro-organismes, la probabilité pour une particule de ne pas la toucher est élevée, ce qui n'est pas le cas des cellules de mammifères.

Le modèle linéaire-quadratique (LQ), également issu de la « target theory » et développé par Rossi et Kellerer en 1972 [ROSSI et KELLERER, 1972], s'est avéré plus adapté pour prédire les effets des rayonnements ionisants sur la survie cellulaire. En se basant sur l'utilisation de paramètres notés α et β qui sont ajustés aux données expérimentales, le modèle LQ est considéré comme l'un des meilleurs modèles pour décrire la survie cellulaire. L'équation reliant la survie cellulaire aux paramètres α et β et la dose absorbée D est la suivante :

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

Un événement léthal est alors supposé être causé par un coup dû soit à la trace d'une particule (composante linéaire αD), soit à deux traces de particules (composante quadratique βD^2).

Cependant, à cause de sa nature empirique, le modèle LQ ne permet pas d'expliquer les mécanismes reliant les dommages à l'ADN à la mort cellulaire.

C'est dans les années 1980 et 1990, que des modèles plus complexes comme les modèles « Repair-misrepair » (RMR) [TOBIAS, 1985], « Lethal-potentially lethal » (LPL) [CURTIS, 1986] et « saturable repair » [GOODHEAD, 1985] ont été développés en introduisant notamment, la notion de réparation

des dommages à l'ADN sans pour autant fournir des modèles mécanistiques pouvant expliquer le lien entre les dommages et la mort cellulaire.

Le modèle Repair-misrepair (RMR)

Le modèle RMR permet de décrire l'évolution des lésions U en fonction du temps grâce à l'équation suivante :

$$\frac{dU}{dt} = -\lambda U(t) - \kappa U^2(t) \quad (5.2)$$

Avec λ le coefficient de « self-repair », considéré comme étant une voie de réparation correcte, κ le coefficient de « cooperative repair » reflétant l'interaction possible de paires de lésions U et considéré comme une mauvaise réparation.

En intégrant l'équation 5.2, on obtient :

$$U(t) = \frac{U_0 e^{-\lambda t}}{1 + \frac{U_0(1 - e^{-\lambda t})}{\frac{\lambda}{\kappa}}} \quad (5.3)$$

Dans le modèle RMR, un ratio de réparation ϵ (rapport du taux de réparation correcte et du taux de réparation incorrecte) est défini comme :

$$\epsilon = \frac{\lambda}{\kappa} \quad (5.4)$$

L'équation de la survie cellulaire est alors exprimée comme :

$$S = e^{-U_0} \left[1 + \frac{U_0}{\epsilon} \right]^\epsilon \quad (5.5)$$

Le modèle Lethal-potentially lethal (LPL)

Le modèle LPL classe les lésions en lésions létales (L) ou lésions potentiellement létales (PL). Deux équations différentielles sont alors utilisées afin de décrire la cinétique de réparation de ces deux types de lésions.

$$\frac{dn_{PL}}{dt} = -\epsilon_{PL}n_{PL}(t) - \epsilon_{2PL}n_{PL}(t)^2 \quad (5.6)$$

$$\frac{dn_L}{dt} = \epsilon_{2PL}n_{PL}(t)^2 \quad (5.7)$$

Avec n_{PL} le nombre de lésions potentiellement létales, n_L le nombre de lésions létales, ϵ_{PL} le taux de réparation par unité de temps (constant) et ϵ_{2PL} le taux d'interaction entre deux lésions potentiellement létales par unité de temps (binary misrepair).

Les solutions des équations 5.6 et 5.7 sont alors :

$$n_{PL}(t) = \frac{N_{PL}e^{-\epsilon_{PL}t_r}}{[1 + (N_{PL}/\epsilon)(1 - e^{-\epsilon_{PL}t_r})]} \quad (5.8)$$

$$n_L(t) = N_L + \frac{N_{PL}(1 + (N_{PL}/\epsilon)(1 - e^{-\epsilon_{PL}t_r}))}{[1 + (N_{PL}/\epsilon)(1 - e^{-\epsilon_{PL}t_r})]} - \epsilon \ln [1 + (N_{PL}/\epsilon)(1 - e^{-\epsilon_{PL}t_r})] \quad (5.9)$$

Avec $N_{PL} = n_{PL}(T)$, $N_L = n_L(T)$, $\epsilon = \epsilon_{PL}/\epsilon_{2L}$, T la durée de l'irradiation et t_r le temps de réparation disponible.

Le nombre total de lésions n_{tot} à un temps $t=T+t_r$ est alors égal à :

$$n_{tot}(T + t_r) = n_L(T + t_r) + n_{PL}(T + t_r) \quad (5.10)$$

Cela implique notamment qu'après un temps $t=T+t_r$, toutes les lésions potentiellement létales restantes deviennent létales.

Et la survie cellulaire est exprimée comme :

$$S = e^{-n_{tot}(T+t_r)} = e^{-N_{TOT}[1 + N_{PL}/\epsilon(1 - e^{-\epsilon_{PL}t_r})]^\epsilon} \quad (5.11)$$

Avec $N_{TOT} = N_L + N_{PL}$.

Le modèle « saturable repair »

Le modèle « saturable repair » repose sur l'hypothèse que l'efficacité du système de réparation décroît lorsque la dose augmente. Cette diminution de l'efficacité serait due à la saturation de la cinétique de réparation. En effet, il est supposé que pour une certaine dose, le nombre de dommages est supérieur au nombre de molécules ou enzymes de réparation.

La vitesse de réparation des lésions est définie comme :

$$\frac{dn}{dt} = -kcn \quad (5.12)$$

Avec n le nombre de lésions non réparées, c le nombre de molécules ou enzymes de réparation, et k un coefficient de proportionnalité.

Ce modèle assume que la réparation de chaque lésion n réduit le nombre de molécules de réparation c par 1 et que les molécules de réparation ne sont pas renouvelées. En considérant alors que $dc = dn$ et que la réparation s'effectue pendant un certain temps T , le nombre résiduel de lésions après la réparation est :

$$n_T = \frac{n_0 - c_0}{1 - \frac{c_0}{n_0} e^{kT(c_0 - n_0)}} \quad (5.13)$$

Avec n_0 le nombre initial de dommages dépendant de la dose, et c_0 le nombre initial de molécules de réparations.

L'équation de la survie cellulaire est alors égale à :

$$S(D) = e^{-\frac{n_0 - c_0}{1 - \frac{c_0}{n_0} e^{kT(c_0 - n_0)}}} \quad (5.14)$$

Limite des modèles historiques

Nous avons vu que les premiers modèles historiques ont essayé d'établir un lien direct entre une irradiation et la mort cellulaire en utilisant des équations simples. D'autres modèles ont ensuite été développés en intégrant l'aspect de la réparation des dommages à l'ADN comme les modèles RMR, LPL et « saturable repair ». Cependant, les modèles RMR et LPL supposent que les mauvaises réparations mènent systématiquement à la mort cellulaire. Or, ce n'est pas le cas en réalité car certaines mauvaises réparations peuvent mener à des instabilités génomiques mais restent viables [JEGGO et LOBRICH, 2007]. De plus, ces modèles considèrent une cinétique de réparation constante. Cependant, nous avons vu dans la section 5.1 que la cinétique de réparation des DSBs n'était pas constante et présentait une composante lente et une composante rapide de réparation. Notons d'ailleurs que le type de lésion à l'origine de la mort cellulaire n'est pas clairement identifié dans ces modèles. Le modèle « saturable repair » quant à lui, émet l'hypothèse d'une saturation du

système de réparation des dommages à l'ADN. Or, quelques dizaines de DSB (~30-40) sont induits par unité de dose (Gy) alors que le nombre de molécules de réparation se situe entre 10^4 et 10^8 [BODGI et al., 2016] ce qui contredit l'hypothèse d'une saturation.

5.2.2 Modèles paramétriques

Dans l'objectif de mieux rendre compte de la relation entre les dommages à l'ADN et en particulier des DSBs, vers les effets plus tardifs, des nouveaux modèles de type paramétrique ont été développés. Les modèles paramétriques sont considérés ici comme des modèles employant un jeu de paramètres ajustés aux données expérimentales pour reproduire ces dernières et qui ne prennent pas en compte de manière explicite, tous les mécanismes impliqués dans les effets tardifs. Je présente dans cette section, certains de ces modèles.

5.2.2.1 Le « Two-lesion kinetic model » (TLK)

Le modèle TLK a été développé en 2001 par Stewart [STEWART, 2001] dans le but de fournir une méthode capable d'établir le lien entre les dommages à l'ADN et plus particulièrement les DSBs (formation, réparation, mauvais réparation), avec la mort cellulaire, ce qui n'était pas le cas des modèles précédents comme les modèles LQ, LPL et RMR.

Tout comme dans les modèles LPL et RMR, le modèle TLK inclut des processus de réparation non saturables de premier et second ordre. Dans le modèle TLK, les DSBs sont subdivisés en DSBs simples et complexes. Un DSB simple est alors considéré comme un DSB contenant deux SBs situés sur chacun des deux brins de l'ADN sur une longueur de 10 à 20 bp. Un DSB complexe est défini comme un DSB simple contenant des dommages additionnels (dommages aux bases, SB...) dans la même portion d'ADN considérée. Les fragments d'ADN associés aux DSBs peuvent interagir entre eux par paires et former des aberrations chromosomiques létales ou non létales. Dans le modèle TLK, la réparation de l'ADN est effectuée en utilisant des équations différentielles non-linéaires de premier ordre pour prédire les cinétiques enzymatiques de réparation de l'ADN. Également, ce modèle suggère que la réparation des DSBs dépend de la sévérité de la lésion. Aucune hypothèse spécifique n'est faite à propos des étapes biochimiques impliquées dans la réparation des DSBs et des approches paramétriques sont alors utilisées. Il a été suggéré par Stewart qu'un bon modèle de mort cellulaire radio-induite doit être capable de prédire une large gamme de conditions d'irradiation en utilisant un seul jeu de paramètres.

Soient L_1 et L_2 , le nombre de DSBs simples et complexes respectivement.

Cinq paramètres sont ajustables dans le modèle TLK :

- λ_1 : probabilité de réparation pour les DSBs simples
- λ_2 : probabilité de réparation pour les DSBs complexes
- β_1 : probabilité de mauvaise réparation létale pour les DSB simples
- β_2 : probabilité de mauvaise réparation létale pour les DSB complexes
- η : probabilité d'interaction entre deux DSBs pour former des lésions létales (en h^{-1})

Ces différents paramètres sont ensuite utilisés dans trois équations différentielles non-linéaires de premier ordre [DOUGLASS et al., 2015].

La première équation permet de calculer l'évolution du nombre de DSBs simples en fonction du temps :

$$\frac{dL_1(t)}{dt} = -\lambda_1 L_1(t) - \eta L_1(t)[L_1(t) + L_2(t)] \quad (5.15)$$

La deuxième permet de calculer l'évolution du nombre de DSBs complexes en fonction du temps :

$$\frac{dL_2(t)}{dt} = -\lambda_2 L_2(t) - \eta L_2(t)[L_1(t) + L_2(t)] \quad (5.16)$$

Enfin, la troisième équation permet de calculer la conversion des DSBs en lésion létales L_{LETHAL} en fonction du temps :

$$\frac{dL_{LETHAL}(t)}{dt} = \beta_1 \lambda_1 L_1(t) + \beta_2 \lambda_2 L_2(t) + 0,25\eta[L_1(t) + L_2(t)]^2 \quad (5.17)$$

La constante égale à 0,25 indique la probabilité de former une aberration chromosomique létale de type dicentrique lors de l'interaction entre deux dommages (un quart du nombre total de mauvaises recombinaisons).

A partir du nombre de lésions létales, nous pouvons estimer la survie cellulaire S pour un temps t après irradiation :

$$S(t) = e^{-L_{LETHAL}(t)} \quad (5.18)$$

Les paramètres λ_1 , λ_2 , β_1 , β_2 , et η , sont ajustés pour un type cellulaire donné en fonction des données expérimentales mais sont totalement indépendants de la qualité du rayonnement (type et énergie).

Pour illustrer l'application du modèle TLK, la figure 5.4 montre la comparaison entre la simulation et les données expérimentales des courbes de survie cellulaire en fonction de la dose pour des cellules V79 irradiées par des protons de 0,76 MeV et 1,9 MeV [DOUGLASS et al., 2015].

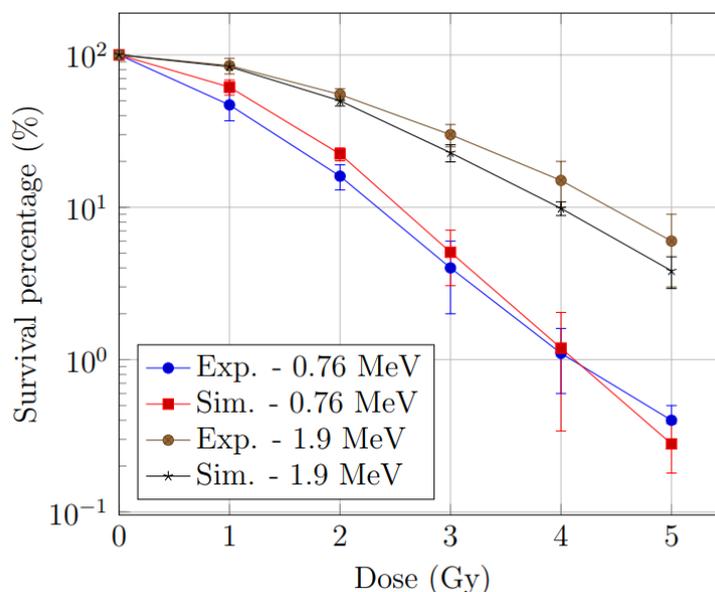


Figure 5.4 : Comparaisons des courbes de survie cellulaire expérimentales et calculées avec le modèle TLK en fonction de la dose pour des cellules V79 irradiées par des protons de 0,76 MeV et 1,9 MeV [DOUGLASS et al., 2015].

5.2.2.2 Le « Local effect model » (LEM)

Le Local effect model a été initié dans les années 1990 au GSI à Darmstadt dans le but d'étudier la radiothérapie par ions lourds et de mieux comprendre les caractéristiques des cellules qui expliqueraient les observations de la réponse cellulaire aux rayonnements ionisants. Le LEM permet de prédire des valeurs d'EBR pour une variété d'ions et de TEL. Du fait de son pouvoir prédictif, le LEM est utilisé en entrée des plans de traitement par ions lourds notamment au HIT (Heidelberg Ion-Beam Therapy Center) en Allemagne et au CNAO (Centro Nazionale di Adroterapia Oncologica) en Italie [BALLARINI et CARANTE, 2016]. Depuis les années 1990, plusieurs développements ont conduit à différentes versions améliorées du LEM. Parmi elles, la version la plus récente (2010) est le LEM IV, dont la validation pour les traitements cliniques n'a pas encore été effectuée [GILLMANN et al., 2014]. Nous allons donc nous intéresser au LEM IV et plus particulièrement ici à la modélisation de la cinétique de réparation des DSBs appliquée dans celui-ci.

Principe du LEM

Le principe du LEM est basé sur l'idée qu'une répartition similaire des dommages à l'ADN doit mener à des dommages biologiques équivalents indépendamment de la qualité de rayonnement à l'origine de ceux-ci. Le LEM IV repose donc essentiellement sur la répartition spatiale des dommages à l'ADN et en particulier des DSBs à l'intérieur du noyau cellulaire pour établir un lien avec la réponse biologique d'une cellule au rayonnement. Pour cela, ce modèle s'intéresse au nombre de DSBs présent au niveau de boucles de chromatine de 2 Mbp appelées « Giant loop » ou domaines représentant les structures sensibles d'ADN. Ces boucles de chromatine sont rattachées à une « micelle » comme représenté dans la figure 5.5 [HERR, 2015]. Lorsqu'un unique DSB est présent dans une boucle, il est alors considéré comme un DSB isolé (iDSB) qui sera réparé avec une grande fidélité puisque les extrémités de la boucle restent attachées à la matrice nucléaire ou à la micelle. Dans le cas où deux DSBs ou plus se situent dans une boucle, ces DSBs sont alors considérés comme un cluster de DSBs (cDSB). Les cDSBs peuvent être néfastes pour la cellule du fait de la perte de l'intégrité de la structure de la boucle et de la diffusion de fragments d'ADN et ce, indépendamment du nombre exact de DSBs contenus dans les clusters. La réparation des cDSBs est alors plus difficile que celle des iDSBs.

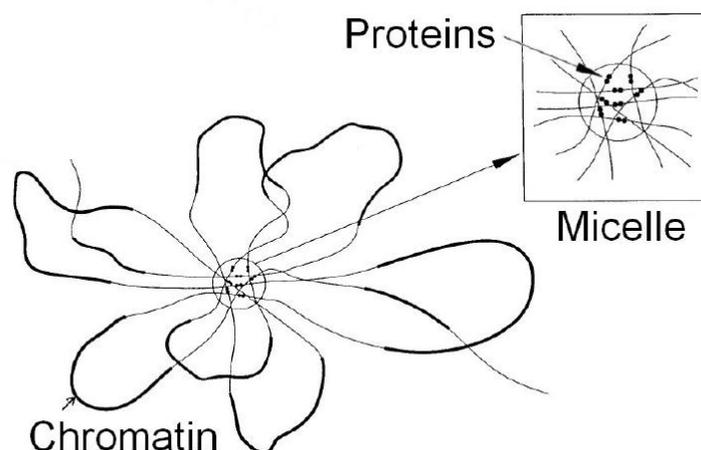


Figure 5.5 : Schéma représentant la configuration des boucles de chromatine rattachées à la micelle [HERR, 2015].

Simulation de la distribution spatiale des DSBs

Le LEM simule la distribution spatiale des DSBs induits par des ions en évaluant tout d'abord la distribution de dose correspondant à des traces individuelles d'ions traversant la cellule. Chaque trace est divisée en différents volumes cylindres concentriques. Ensuite, le modèle de structure de « trace amorphe » formé par un cœur et une pénombre [ELSASSER et al., 2008] est utilisé afin de déterminer la dose déposée dans chacun des volumes cylindriques. A partir de la dose, le nombre de DSBs dans chacun des cylindres est calculé en se basant sur une distribution de Poisson. Puis, la répartition

spatiale des DSBs est effectuée de manière aléatoire et uniforme dans chaque trace individuelle. Pour plus de détails concernant le calcul et la distribution initiale des DSBs, le lecteur est invité à se référer aux publications correspondantes [ELSASSER et SCHOLZ, 2007 ; ELSASSER et al., 2010 ; FRIEDRICH et al., 2012].

Pour les irradiations photon, la distribution de Poisson est directement utilisée pour décrire la distribution aléatoire des DSBs dans le noyau cellulaire.

Calcul des DSBs isolés et des DSBs clusterisés

Pour le calcul des iDSBs et des cDSBs, le volume du noyau cellulaire est supposé constant et égal à $500 \mu\text{m}^3$ quel que soit le type cellulaire [TOMMASINO et al., 2013]. Le contenu en ADN est également fixe et correspond à 5,4 Gbp pour tous les types cellulaires, bien qu'il a été mentionné dans la publication de [TOMMASINO et al., 2013] que le contenu en ADN de fibroblastes humains est d'environ 6 Gbp. Cela a été justifié par le fait que le modèle s'appuie sur des fractions relatives de iDSB et de cDSB et non pas sur leur nombre absolu et que cette différence possible du contenu en ADN n'a pas d'impact sur les résultats. Également, les domaines (boucles de chromatine) sont représentés par des volumes cubiques de $0,54 \mu\text{m}$ de côté.

Dans le LEM, le nombre total de DSBs n_{DSB} correspond à la somme :

$$n_{\text{DSB}} = n_i + n_c \cdot \lambda_c \quad (5.19)$$

Avec n_i le nombre de domaines contenant un iDSB, n_c le nombre de domaines contenant un cDSB, et λ_c le nombre moyen de DSBs contenus dans chaque cDSB.

Une représentation schématique d'un noyau cellulaire, des domaines, des iDSBs et des cDSBs après une irradiation ion ou photon est illustrée dans la figure 5.6.

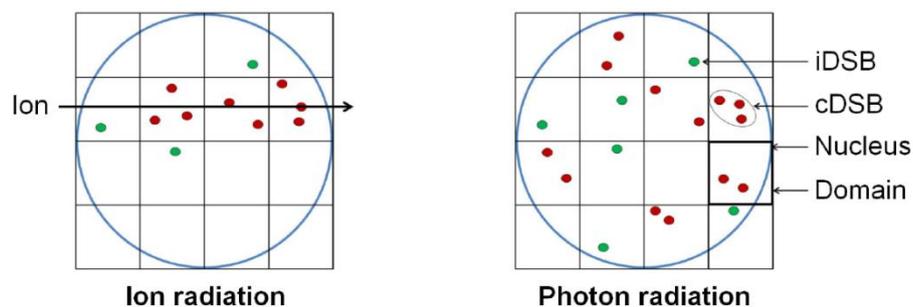


Figure 5.6 : Représentation schématique d'un noyau cellulaire découpé en domaines incluant un iDSB ou des cDSBs après une irradiation ion ou photon. En vert sont marqués les domaines contenant uniquement un DSB (iDSB). En rouge, ceux contenant deux DSBs ou plus (cDSB) [HERR, 2015].

Soient N_L le nombre de domaines contenus dans le noyau, $\lambda(D)$ le nombre de DSBs par domaine pour une dose absorbée D .

Le nombre moyen de DSBs par domaine $\lambda(D)$ est défini comme :

$$\lambda(D) = \frac{\alpha_{DSB} D}{N_L} \quad (5.20)$$

Avec α_{DSB} égale à 30 DSBs par Gy par noyau.

Il est alors possible de calculer le nombre de domaines contenant un iDSB et le nombre de domaines contenant un cDSB par les deux équations suivantes :

$$n_i(D) = N_L \lambda(D) e^{-\lambda(D)} \quad (5.21)$$

$$n_c(D) = N_L (1 - e^{-\lambda(D)} - \lambda(D) e^{-\lambda(D)}) \quad (5.22)$$

Modèle de la réparation des DSBs

La réparation des DSBs peut être décrite par une loi bi-exponentielle avec une composante rapide et une composante lente [TOMMASINO et al., 2015]. Dans ce modèle, les iDSBs sont supposés être réparés avec une cinétique rapide (F_{fast}) car ils sont considérés comme des lésions mineures tandis qu'une cinétique de réparation lente (F_{slow}) est appliquée aux cDSBs qui sont supposés être plus difficiles à réparer.

Les deux composantes cinétiques F_{fast} et F_{slow} sont définies par les équations suivantes :

$$F_{fast} = \frac{n_i}{n_i + n_c \cdot \lambda_c} \quad (5.23)$$

$$F_{slow} = \frac{n_c \cdot \lambda_c}{n_i + n_c \cdot \lambda_c} \quad (5.24)$$

Avec λ_c le nombre moyen de DSBs par cluster :

$$\lambda_c = \frac{n_{DSB} - n_i}{n_c} \quad (5.25)$$

A partir de cela, la fraction de DSBs non réparés à un temps t , $U(t)$, peut être calculée par une décroissance exponentielle bi-phasique avec les composantes F_{fast} et F_{slow} , caractérisées par des demi-vies τ_{fast} et τ_{slow} respectivement :

$$U(t) = F_{\text{fast}} e^{-\frac{\ln(2)}{\tau_{\text{fast}}}t} + F_{\text{slow}} e^{-\frac{\ln(2)}{\tau_{\text{slow}}}t} \quad (5.26)$$

Notons que le nombre de dommages au temps $t=0$ est normalisé à 1.

Plus récemment, Tommasino et al. [TOMMASINO et al., 2015] ont considéré la présence de fractions de DSBs résiduels, c'est-à-dire, des DSBs qui ne sont pas réparés même pour des temps tardifs (> 24 h) comme le montrent les expériences. Il semblerait également que cette fraction de DSBs non réparés est plus importante pour les rayonnements à haut TELs. Tommasino et al. ont alors introduit cette fraction F_{unrej} dans l'équation (5.26) qui devient donc :

$$U(t) = F_{\text{fast}} e^{-\frac{\ln(2)}{\tau_{\text{fast}}}t} + (F_{\text{slow}} - F_{\text{unrej}}) e^{-\frac{\ln(2)}{\tau_{\text{slow}}}t} + F_{\text{unrej}} \quad (5.27)$$

Dans le LEM IV, il est considéré que les demi-vies associées aux iDSBs et aux cDSBs sont indépendantes de la qualité du rayonnement mais dépendent du type cellulaire. De ce fait, τ_{fast} et τ_{slow} sont obtenus en ajustant les données expérimentales pour un type cellulaire donné et pour différents types de rayonnements (faibles et hauts TELs) simultanément. Notamment, les demi-vies pour des fibroblastes humains ont été déterminées à partir des données de Löbrich et al. [LOBRICH et al., 1998] comme $\tau_{\text{fast}} = 0,24$ h et $\tau_{\text{slow}} = 2,81$ h [TOMMASINO et al., 2015].

Les valeurs de F_{unrej} pour différents types de particules et pour différents TELs utilisés dans le LEM IV sont présentées dans le tableau 5.1 [TOMMASINO et al., 2015].

Tableau 5.1 : Valeurs de F_{unrej} pour des ions He, Fe et N de différents TELs utilisés dans le LEM IV [TOMMASINO et al., 2015] provenant de l'ajustement du modèle aux données expérimentales de Löbrich et al. [LOBRICH et al., 1998].

Type de particule	TEL (keV/ μm)	F_{unrej}
He	7	0,0008
He	70	0,050
He	120	0,188
N	97	0,096
Fe	150	0,107

A titre d'exemple, les fractions de DSBs non réparés (non rejoints) en fonction du temps pour les fibroblastes humains obtenues avec le LEM IV pour des ions He, N et Fe de différents TELs et pour une dose de 80 Gy sont présentées dans la figure 5.7. Sur cette figure, l'évolution de la fraction de DSBs non rejoints en fonction du temps a été calculée en utilisant soit l'équation (5.26) (trait plein), soit l'équation (5.27) (trait en pointillé) et a été comparée aux données expérimentales de Löbrich et al. [LOBRICH et al., 1998].

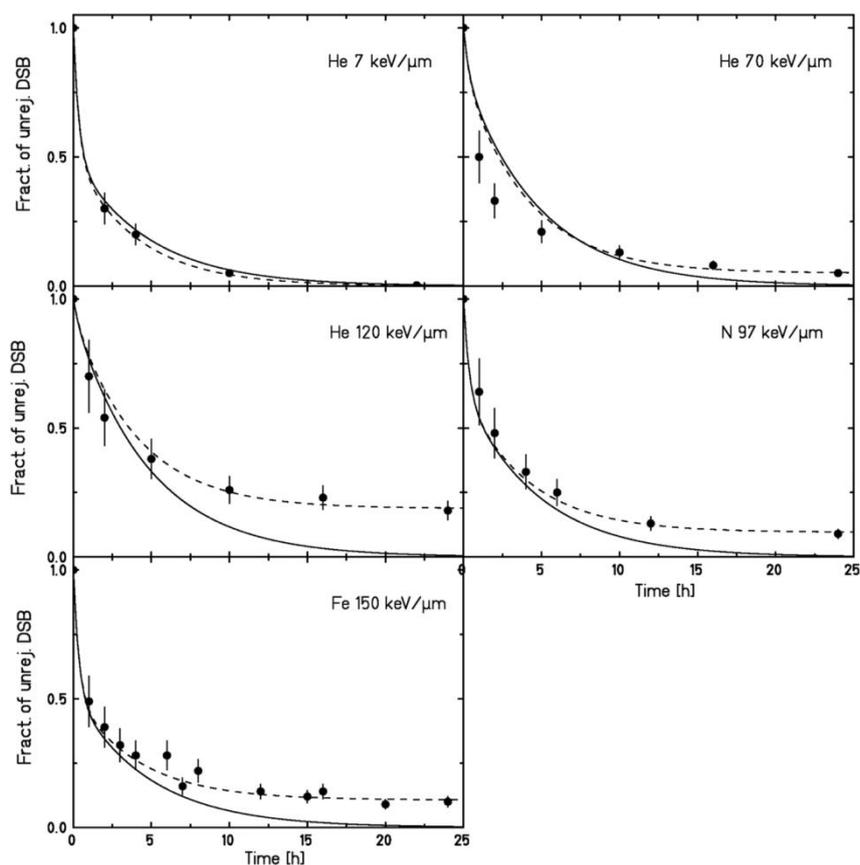


Figure 5.7 : Fraction de DSBs non rejoints en fonction du temps pour des fibroblastes humains irradiés par des ions He, N et Fe de différents TELs pour une dose de 80 Gy. Les lignes correspondent aux prédictions du LEM IV (trait plein sans le F_{unrej} ; trait en pointillé avec le F_{unrej}) et les points aux données expérimentales de [LOBRICH et al., 1998].

5.2.2.3 Le « Microdosimetric kinetic model » (MKM)

Le Microdosimetric Kinetic Model (MKM) a été proposé et développé par Hawkins [HAWKINS, 2003]. Il est notamment utilisé en clinique dans les plans de traitement pour les radiothérapies par ions au Japon [CHEN et al., 2017]. Dans ce modèle, le noyau cellulaire est divisé en différentes régions subcellulaires de même masse nommées domaines. Les domaines sont considérés comme des sphères de diamètre d et chaque domaine contient une certaine quantité d'ADN notée g . Deux types de lésions sont considérés dans le MKM : des lésions de type I et des lésions de type II.

Les lésions de type I sont considérées comme létales pour la cellule et non réparables. La probabilité de former des lésions de type I est directement proportionnelle à la dose absorbée par le domaine, ce qui correspond en microdosimétrie à l'énergie spécifique z , mais également proportionnelle au contenu en ADN du domaine, g . La constante de proportionnalité pour la formation d'une lésion de type I est notée λ_d .

Les lésions de type II sont des lésions ayant été transformées suivant l'une des quatre voies suivantes :

- Conversion en une lésion létale non réparable par un processus de type unimoléculaire avec un taux de premier ordre constant a .
- Recombinaison avec une autre lésion de type II au sein du même domaine pour former une lésion létale non réparable avec un taux de premier ordre constant b_d . Le diamètre du domaine d correspond donc à la distance maximale pour laquelle deux lésions de types II peuvent interagir.
- Réparation par un processus de type unimoléculaire avec un taux de premier ordre constant c .
- Persistance pendant un certain temps t_r après lequel, la lésion devient létale et non réparable.

Notons que les lésions de type II peuvent être assimilées aux DSBs.

Tout comme les lésions de type I, la probabilité de formation des lésions de type II est proportionnelle à l'énergie spécifique z reçue par domaine et à leur contenu en ADN g . La constante de proportionnalité est alors k_d .

Une relation linéaire-quadratique est établie entre le nombre de lésions létales dans un domaine, L , et l'énergie spécifique z reçue par ce domaine [CHEN et al., 2017] :

$$L = Az + Bz^2 \quad (5.28)$$

Avec :

$$A = \frac{ak_d}{(a+c)} + \lambda_d + \frac{ck_d}{(a+c)} e^{-(a+c)t_r} \quad (5.29)$$

Et :

$$B = \frac{b_d k_d^2}{(2a+c)} (1 - e^{-2(a+c)t_r}) \quad (5.30)$$

La fraction de survie cellulaire S peut être exprimée comme :

$$\ln S = -(\alpha_0 + \beta z_{1D}^*)D - \beta D^2 \quad (5.31)$$

Avec les paramètres α_0 et B égaux à :

$$\alpha_0 = \lambda + k \left(\frac{a}{(a+c)} + \frac{c}{(a+c)} e^{-(a+c)t_r} \right) \quad (5.32)$$

$$\beta = k^2 \left(\frac{b_d}{2p(a+c)} (1 - e^{-2(a+c)t_r}) \right) \quad (5.33)$$

Où $\lambda = \lambda_d \cdot p$ et $k = k_d \cdot p$, sont les nombres de lésions de type I et II par unité de dose et par cellule indépendamment de la qualité du rayonnement, et p le nombre de domaines dans un noyau. L'influence de la qualité du rayonnement est prise en compte dans le paramètre z_{1D}^* qui est égal à :

$$z_{1D}^* = \frac{\int_0^\infty z_{sat} z f_1(z) dz}{\int_0^\infty z f_1(z) dz} \quad (5.34)$$

Où $f_1(z)$ est la densité de probabilité de l'énergie spécifique z déposée dans le domaine, et z_{sat} est l'énergie spécifique corrigée de la saturation [KASE et al., 2006] :

$$z_{sat} = \frac{z_0^2}{z} \left(1 - \exp\left(-\frac{z^2}{z_0^2}\right) \right) \quad (5.35)$$

Et avec z_0 le coefficient de saturation qui dépend du rayon du domaine r_d et du rayon du noyau R_n .

$$z_0 = \frac{(R_n/r_d)^2}{\sqrt{\beta(1 + ((R_n/r_d)^2)}} \quad (5.36)$$

Dans le MKM, les paramètres α_0 , β , r_d , et R_n sont indépendants de la qualité du rayonnement et peuvent être obtenus en les ajustant aux données expérimentales. La valeur z_{1D}^* peut être calculée en mesurant le spectre microdosimétrique avec un Compteur proportionnel équivalent tissu (CPET).

Notons néanmoins que dans le modèle, le nombre de lésions primaires est supposé indépendant de la qualité du rayonnement et donc, également du TEL. De ce fait, le paramètre β est également considéré comme une constante. Or, nous savons que le nombre de dommages, comme les DSBs, dépend du type et du TEL de la particule. Pour prendre en compte cette spécificité, une version modifiée du MKM (MMKM) a été développée [CHEN et al., 2017]. Cela a permis entre autres, d'obtenir des valeurs d'EBR plus précises.

5.2.3 Modèles mécanistiques

Nous avons vu dans la section 5.2.2 précédente que plusieurs modèles paramétriques ont été développés suites aux modèles « historiques » afin d'apporter des éléments de réponses dans la

compréhension du lien entre les dommages à l'ADN i.e. les DSBs et la réponse cellulaire associée. Cependant, bien que ces modèles paramétriques arrivent le plus souvent à reproduire les données expérimentales et montrent l'implication de différents facteurs dans les effets tardifs (complexité des dommages, répartition spatiale des dommages, cinétiques lente et rapide de réparation...), ils restent dépendants des données expérimentales. De plus, la modélisation mécanistique peut apporter une meilleure compréhension du rôle des différents acteurs ou étapes impliqués dans la réponse cellulaire. Nous présenterons dans cette section quelques-uns des modèles qui ont été développés.

5.2.3.1 PARTRAC

Le code PARTRAC, présenté au chapitre 1, a étendu le calcul des dommages à l'ADN à la simulation mécanistique de la réparation de l'ADN et de la formation des aberrations chromosomiques [FRIEDLAND et KUNDRAT, 2013].

Dans PARTRAC, la réparation des DSBs s'effectue via le NHEJ. Tout d'abord, les informations concernant la position géométrique et génomique des fragments d'ADN générés par les DSBs (un DSB forme deux fragments), c'est-à-dire, leur position dans le noyau et au sein du chromosome en incluant la localisation dans l'hétérochromatine ou l'euchromatine, sont recueillies. Ensuite, la longueur de la fibre de chromatine séparant le fragment du prochain « site d'attachement nucléaire » ou du prochain DSB est enregistrée. Enfin, la complexité du dommage est considérée. Pour cela, chaque dommage se trouvant à proximité du DSB (cassure de brin ou lésion de bases) est pris en compte et ce, jusqu'à ce qu'une portion de 20 bp non endommagée soit trouvée.

Les fragments d'ADN sont ensuite classés selon deux catégories :

- Les fragments « propres » (clean DNA ends) ne comprenant aucun dommage à proximité.
- Les fragments « sales » (dirty DNA ends) lorsque des cassures de brin ou des dommages aux bases se trouvent à proximité. Ce type de fragment est alors supposé ralentir le processus de réparation.

Dans ce modèle de réparation via NHEJ, les cinétiques des différentes enzymes mises en jeu et des processus de réparation sont intégrées. La modélisation du NHEJ comprend la dynamique de la chromatine pour permettre l'accès aux protéines de réparation au niveau du site du DSB, le recrutement de l'hétérodimère Ku70/Ku80, la formation des complexes DNA-PK ainsi que la dissociation des différentes enzymes. Pour les fragments « sales », le processus de réparation est plus lent dû au fait que chaque cassure de brin ou dommage de base à proximité du DSB est réparé individuellement jusqu'à ce que le fragment soit « propre » afin d'être ensuite rejoint.

A la fin, les fragments d'ADN sont ligaturés et sont classés selon différentes possibilités :

- Fragments d'ADN correctement rejoints.

- Aberration chromosomique de type anneau (ligature des deux extrémités d'un même fragment d'ADN).
- Mauvaise recombinaison de type interchromosomal (ligature de fragments d'ADN de chromosomes différents).
- Mauvaise recombinaison de type intrachromosomal (ligature de fragments d'ADN au sein d'un même chromosome).

Un schéma illustrant la réparation de l'ADN et la formation des aberrations chromosomiques dans PARTRAC est représenté dans la figure 5.8.

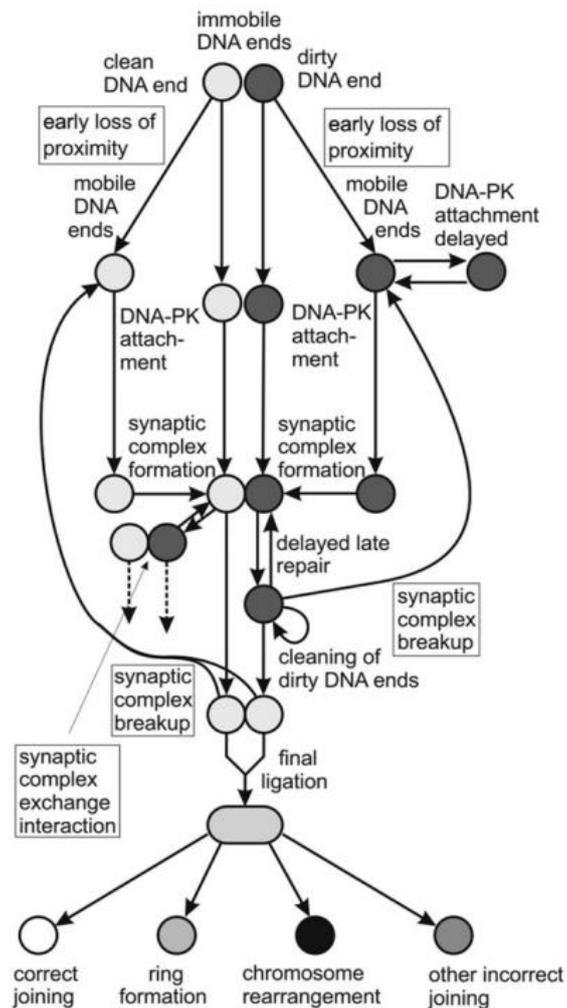


Figure 5.8 : Schéma général de la réparation de l'ADN et de la formation des aberrations chromosomiques dans le code PARTRAC [FRIEDLAND et al., 2019].

Notons également que les fragments d'ADN inférieurs à 25 bp ne peuvent pas se recombinaison. En effet, il semblerait que les complexes DNA-PK ne peuvent pas exercer leur activité kinase (phosphorylation) lorsqu'ils sont attachés sur des fragments de cette taille.

Un des avantages de PARTRAC pour la réparation des DSBs est la prise en compte de l'aspect temporel mais également de l'aspect spatial de la réparation. En effet, parallèlement à la cinétique de réparation, la mobilité des fragments d'ADN individuels est considérée afin de refléter la dynamique de la chromatine. Cette dynamique de la chromatine n'est cependant pas modélisée de façon explicite car elle ne prend pas en compte par exemple, la dynamique de compaction de la chromatine lors de la réparation. La mobilité des fragments d'ADN est alors modélisée de manière stochastique par l'application de coefficients de diffusion. Cela est un élément important car la dynamique de la chromatine joue un rôle crucial dans la formation des aberrations chromosomiques. En effet, des fragments d'ADN formés par un DSB peuvent diffuser relativement loin avant que leur recombinaison ne s'effectue ou, dans le cas contraire, rester à proximité mais ne pas se trouver dans la même phase de la réparation ce qui peut empêcher leur ligature. La probabilité que deux fragments d'ADN se rejoignent est élevée lorsqu'ils sont à proximité et décroît rapidement lorsque la distance les séparant augmente.

Grâce à la modélisation de la réparation via NHEJ des fragments d'ADN issus des DSBs dans le code PARTRAC, Friedland et Kundrát [FRIEDLAND et KUNDRAT, 2013] ont pu déterminer le nombre et le type d'aberrations chromosomiques résultant d'une irradiation. Ils ont notamment montré que la distance séparant les fragments d'ADN suite à une irradiation avec du ^{137}Cs (dose simulée inférieure à 8 Gy) était assez importante pour que la probabilité de mauvaise recombinaison entre différents fragments d'ADN soit faible. De ce fait, la plupart des fragments d'ADN ont été rejoints correctement (85-95%) et le nombre d'aberrations chromosomiques est alors faible (< 7%). En revanche, pour des irradiations avec des ions alphas de 3,5 MeV, seulement 30% des fragments d'ADN ont été rejoints correctement et le nombre d'aberrations chromosomiques (inter- intrachromosomal et anneau) est alors majoritaire.

5.2.3.2 Modèle de Taleei et al.

Taleei et al. [TALEEI et al., 2015] ont récemment développé un modèle de réparation des DSBs pour des cellules de mammifères en phase S précoce et en phase G1 du cycle cellulaire. Ce modèle de réparation est basé principalement sur les cinétiques de réparation en fonction de la complexité des DSBs dans l'hétérochromatine uniquement. Le modèle a été appliqué aux DSBs induits par des irradiations par protons, deutérons ou ions Hélium.

Pour cela, les DSBs ainsi que leur complexité ont été simulés grâce à l'utilisation de la suite KURBUC (PITS99/KURBUC). La classification des dommages peut être retrouvée au chapitre 1 (Cf. Section 1.2.2.1 - figure 1.14).

Puis, une modélisation mathématique mécanistique est utilisée pour la réparation des DSBs. Cette modélisation repose sur un système de 17 équations différentielles non-linéaires afin de refléter les

processus de réparation des différents types de DSB. Ces équations ne seront pas détaillées ici mais sont présentées dans la publication de [TALEEI et al., 2015].

Les différents processus pris en compte dans ce système d'équations incluent entre autres, le recrutement de l'hétérodimère Ku70/Ku80 et des DNA-PKcs pour la formation des complexes DNA-PK et les complexes de ligature LIG IV/XRCC4/XLF. Pour les dommages dans l'hétérochromatine, un processus supplémentaire nécessaire à la ligature est considéré afin de prendre en compte le délai de réparation comme nous avons pu le voir dans la section 5.1. Il est considéré dans ce modèle que les DSBs simples sont réparés par le C-NHEJ tandis que les DSBs complexes sont réparés via le A-NHEJ. En effet, il est alors supposé que les DSBs complexes nécessitent une résection avant de pouvoir être réparés. Or, la seule voie permettant la réparation d'un DSB après résection en phase S précoce ou G1 est le A-NHEJ. Une constante de vitesse (h^{-1}) est attribuée pour chaque équation différentielle. Ensuite, une méthode d'échantillonnage inverse est appliquée pour calculer l'activité de réparation de chaque protéine utilisée pour la réparation d'un DSB donné. Puis, les cinétiques de réparation des DSBs ont été calculées en comptant le nombre de DSBs restants à différents temps.

L'application de ce modèle a montré que la composante lente de la cinétique de réparation des DSBs est fortement associée à la complexité des DSBs et que les constantes de vitesse des protéines de réparations sont indépendantes du type de rayonnement.

Remarquons également que ce modèle de réparation a été précédemment appliqué pour la réparation en phase S tardive et G2 pour des irradiations photon et comprenait également la réparation via HR [TALEEI et NIKJOO, 2013].

5.2.3.3 BIANCA (Biophysical analysis of cell death and chromosome aberrations)

Le modèle biophysique BIANCA (Biophysical ANalysis of Cell death and chromosome Aberrations) a été initialement développé par Ballarini en 1999 [BALLARINI et al., 1999] dans le but de calculer par méthode Monte-Carlo, les aberrations chromosomiques induites par les dommages à l'ADN. Depuis, plusieurs développements ont été effectués et le modèle a été étendu au calcul de la mort cellulaire. Nous nous intéressons ici à la dernière version du modèle nommée BIANCA II [CARANTE et al., 2018]. Cette version du modèle permet de calculer les aberrations chromosomiques et les courbes de survie cellulaire pour différents types de rayonnement comme les photons, les protons, les ions alphas et les ions carbone.

Les DSBs complexes sont reconnus comme étant responsables de l'apparition de fragments d'ADN indépendants dont la mauvaise recombinaison ou la non recombinaison entraînent des aberrations chromosomiques. Les aberrations chromosomiques létales comme les dicentriques, les anneaux ou les délétions peuvent mener à la mort cellulaire. Un autre facteur impliqué dans l'apparition d'aberrations chromosomiques est la proximité des DSBs.

Partant de ces constats, le modèle BIANCA prend en compte les DSBs appelés alors « Cluster lesions » ou CLs ainsi que la distance moyenne d séparant deux territoires chromosomiques adjacents en interphase. Un CL est défini lorsqu'il y a au moins deux SBs à moins de 30 bp sur des brins opposés de l'ADN.

Dans ce modèle, le nombre de CLs par micromètre parcouru par une trace est un paramètre d'entrée ajustable et la distance d est un paramètre fixe dépendant du type cellulaire (1,6 μm pour des lymphocytes humains, 3,0 μm pour des fibroblastes humains et 3,6 μm pour des CHO). Les CLs sont distribués le long des traces représentées par des segments parallèles traversant le noyau cellulaire. Le nombre de CLs induits par une particule primaire donnée dans chaque chromosome traversé est extrait à partir d'une distribution de Poisson et la valeur moyenne est calculée en multipliant la longueur du chromosome traversé (en μm) par le nombre de CL/ μm . Ensuite, chaque chromosome qui a été touché par un CL est identifié et chaque CL est alors associé à l'un des deux bras du chromosome considéré selon le contenu en ADN de chaque bras. Deux CLs peuvent se recombiner seulement si la distance les séparant est inférieure à la distance d . Notons également qu'un autre paramètre f est employé dans BIANCA afin de représenter la probabilité de non recombinaison d'un fragment d'ADN. En effet, bien que deux fragments d'ADN soient à une distance assez proche pour pouvoir se recombiner (inférieure ou égale à d), il existe une certaine probabilité qu'ils demeurent non rejoints [WU et al., 2002]. La probabilité f est dépendante du type cellulaire (f augmente avec la radiosensibilité du type cellulaire) mais supposée indépendante du TEL du rayonnement dans le modèle.

En simulant la recombinaison (bonne ou mauvaise) et la non recombinaison, BIANCA est capable de calculer les différents types d'aberrations chromosomiques et parmi eux, les aberrations dites létales. A partir de ces dernières, il est alors possible d'en déduire la mort cellulaire.

Les résultats obtenus avec le modèle BIANCA ont montré que la complexité des dommages jouait un rôle important dans l'induction des aberrations chromosomiques et donc, par extension, à la mort cellulaire.

5.2.3.4 Modèle de McMahon et al.

McMahon et al. ont développé un modèle mécanistique de la réponse cellulaire aux rayonnements ionisants en incluant la réparation des dommages à l'ADN mais également le calcul des aberrations chromosomiques et la mort cellulaire [MCMAHON et al., 2017]. Ce modèle est basé sur l'utilisation de 11 paramètres mécanistiques ajustables communs à tout type cellulaire. Ces paramètres ont été fixés à partir de plus de 800 courbes de survie cellulaire pour des photons, des protons et des ions carbone.

Trois processus de réparation sont considérés. Il s'agit du NHEJ, du HR et du MMEJ (A-NHEJ). Les DSBs simples sont réparés durant tout le cycle cellulaire par NHEJ tandis que les DSBs complexes sont

réparés par NHEJ en G1 et par HR dans les autres phases. Dans les cellules possédant une réparation défectueuse, la voie MMEJ est utilisée.

Pour chaque DSB, il y a deux possibilités : les deux fragments d'ADN d'un même DSB se rejoignent correctement (bonne réparation) ou les fragments d'ADN de DSBs différents se rejoignent (mauvaise réparation) et mènent alors à des aberrations chromosomiques. La distance séparant les fragments est également prise en compte afin de déterminer le taux de recombinaison entre fragments comme c'est le cas dans BIANCA ou PARTRAC par exemple. La localisation spatiale est aussi considérée afin de déterminer le type d'aberrations chromosomiques (intra/interchromosomal, symétrique/asymétrique). A partir de cela, la prédiction de la survie cellulaire est effectuée.

5.3 Choix des modèles paramétriques : application du LEM IV et du modèle TLK

Grâce aux avancées récentes dans les études expérimentales visant à comprendre les mécanismes de la réponse cellulaire après exposition aux rayonnements ionisants mais aussi dans les méthodes de simulation, nous avons pu voir l'émergence de modèles mécanistiques. En général, ces modèles intègrent les cinétiques des processus de réparation de l'ADN ainsi que la distribution spatiale des dommages et leur interaction afin de prédire, l'apparition d'aberrations chromosomiques ou la mort cellulaire. Cependant, les études expérimentales récentes montrent que la compréhension des processus mis en jeu dans la réparation des dommages à l'ADN reste encore loin d'être complète. En effet, nous avons vu dans la section 5.1 que, bien que les voies « majeures » de réparation soient identifiées (C-NHEJ/HR), la présence et l'utilisation de voies alternatives ou de « sous-voies » restent encore à étudier (A-NHEJ, Resection-dépendent C-NHEJ, SDSA, DSBR, BIR, SSA...). Actuellement, la majorité des modèles mécanistiques prend en compte les voies classiques C-NHEJ et HR et quelques-uns considèrent également certaines voies comme le A-NHEJ. Notons également que, bien que les sous-voies ne jouent pas un rôle majeur dans la réparation, la plupart des modèles d'extension ne considèrent pas non plus la composante liée au niveau de compaction de la chromatine, qui a un rôle majeur dans les processus de réparation des dommages à l'ADN.

L'utilisation des modèles mécanistiques n'a pas été retenue dans cette thèse compte tenu de la difficulté à les modéliser et à les ajuster en raison de la complexité de tous les différents processus mis en jeu qui ne sont pas nécessairement connus, particulièrement ceux impliqués dans la réparation des DSBs. Le choix a été fait d'appliquer dans cette thèse, des modèles paramétriques : le LEM IV pour modéliser la cinétique de réparation des DSBs et le modèle TLK pour le calcul des survies cellulaires. Ces modèles sont particulièrement intéressants dans la mesure où ils sont basés sur le nombre et la répartition spatiale des DSBs ainsi que leur complexité. Il était donc intéressant d'utiliser les données issues des simulations mécanistiques effectuées avec notre chaîne de calcul basée sur

Geant4-DNA comme données d'entrée de ces différents modèles afin de pouvoir évaluer leur compatibilité. De plus, les modèles paramétriques semblent plus à même de répondre aux enjeux du programme de recherche ROSIRIS qui vise à revisiter la notion d'EBR. En effet, la plupart des expériences en radiobiologie associent les effets d'un rayonnement ionisant donné, à la mort cellulaire uniquement. C'est notamment ce que nous avons vu dans le modèle LQ qui est toujours utilisé actuellement (Cf. Section 5.2.1). Cependant, la mortalité cellulaire n'est potentiellement pas la seule origine des effets secondaires survenant après une irradiation [NGUYEN et al., 2018] et ne peut donc prédire à elle seule, un effet biologique. Un modèle radiobiologique intégrant en plus de la mort cellulaire, l'état (phénotype) des cellules survivantes permettrait de dépasser les limites actuelles de l'EBR. Dans le programme ROSIRIS, les effets tardifs additionnels à la mort cellulaire sont considérés comme par exemple, le nombre de foyers γ -H2AX persistants, le phénomène de sénescence (arrêt irréversible du cycle cellulaire) etc. Cela mènerait donc à l'apparition d'une EBR « multiparamétrique » dont les données expérimentales devront être reliées aux données simulées afin d'établir leurs éventuelles relations. L'utilisation conjointe des simulations Monte-Carlo pour le calcul des dommages et de modèles paramétriques intégrant les différentes finalités biologiques et leurs mesures expérimentales, constituerait un outil permettant de mieux comprendre les effets d'un rayonnement ionisant et donc, de permettre d'améliorer les modèles de risque.

5.3.1 Application du LEM IV pour la cinétique de réparation des DSBs

Le LEM IV (Cf. Section 5.2.2.1) a été utilisé pour la modélisation de la cinétique de réparation des DSBs.

Pour cela, n_i (nombre de domaines contenant un iDSB) et n_c (nombre de domaines contenant un cDSB) ont été calculés directement à partir de la chaîne de calcul. La complexité des DSBs n'est alors pas considérée à ce stade, c'est-à-dire, que l'algorithme de clusterisation DBScan n'est pas utilisé (Cf. Chapitre 2 - figure 2.18). Les DSBs sont alors tous « simples » (deux SB séparés par moins de 10 bp et situés sur des brins opposés de l'ADN) et lorsqu'un SB se trouve à moins de 10 bp de ce DSB, il n'est pas pris en compte dans celui-ci. Egalement, notons que contrairement au LEM IV, nous avons utilisé des domaines de 1 Mbp au lieu de 2 Mbp étant donné que les domaines contiennent par défaut 1 Mbp dans DnaFabric. Il faut également remarquer que les résultats présentés dans ce chapitre ont été obtenus à partir de simulations effectuées sur le noyau de fibroblaste rempli uniquement d'hétérochromatine (Cf. Chapitre 2 - Section 2.1.3) du fait que la distribution et la proportion d'hétérochromatine et d'euchromatine au sein de ces noyaux ne sont pas disponibles actuellement (Cf. Chapitre 2. - Section 2.1.4) et que les données expérimentales concernent ce type cellulaire. Les simulations ont été réalisées pour des protons et des alphas de différents TELs et pour différentes doses.

Dans une première étude, l'équation $U(t)$ du LEM IV permettant de calculer la fraction de DSBs non rejoints en fonction du temps mais qui ne prend pas en compte la fraction de DSBs résiduels a été appliquée (équation 5.26).

L'évolution de la fraction des DSBs non rejoints en fonction du temps a été calculée à partir de nos simulations pour des alphas de $33 \text{ keV}/\mu\text{m}$ et pour une dose de 100 Gy. Les résultats ont été comparés aux données calculées du LEM IV ainsi qu'à des données expérimentales [STENERLOW et al., 2000] obtenues par électrophorèse en champ pulsé. Ces données concernent des irradiations de fibroblastes, pour des alphas de $40 \text{ keV}/\mu\text{m}$ et également pour une dose de 100 Gy dans la figure 5.9.

Les paramètres τ_{fast} et τ_{slow} ont été directement repris de la publication de [TOMMASINO et al., 2013] et aucun ajustement n'a été effectué.

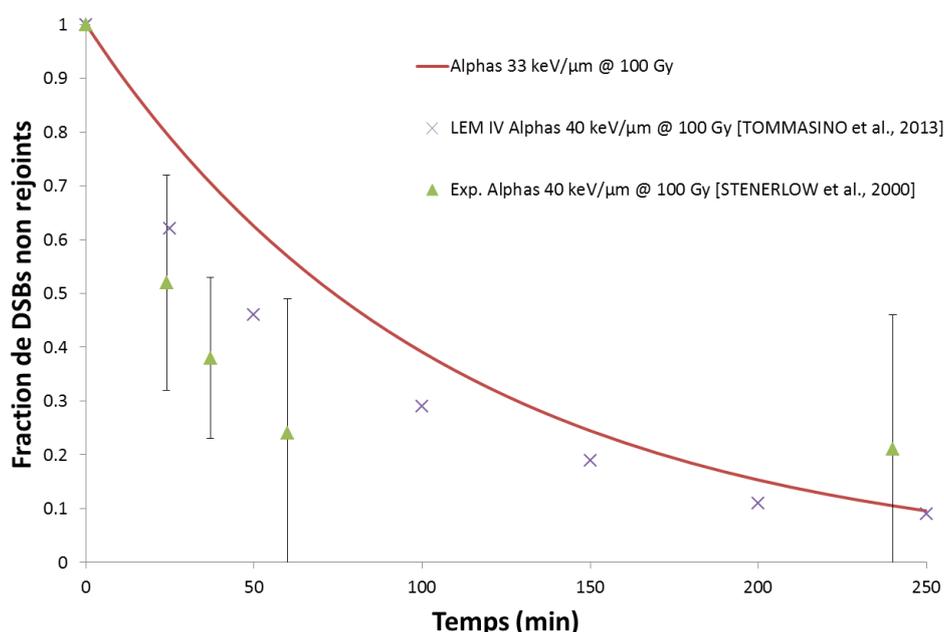


Figure 5.9 : Evolution de la fraction de DSBs non rejoints en fonction du temps après irradiation (parallèle) de cellules de fibroblastes avec des particules alphas et pour une dose de 100 Gy. La courbe rouge représente l'utilisation de la formule 5.26 à partir de nos résultats issus de la simulation avec la chaîne de calcul pour des alphas de $33 \text{ keV}/\mu\text{m}$; Les croix en violet correspondent aux résultats du LEM IV pour des alphas de $40 \text{ keV}/\mu\text{m}$ [TOMMASINO et al., 2013] ; Les triangles verts correspondent aux données expérimentales pour des alphas de $40 \text{ keV}/\mu\text{m}$ [STENERLOW et al., 2000].

Nous pouvons observer dans la figure 5.9 que la fraction de DSBs non rejoints est légèrement surestimée dans les simulations (chaîne de calcul et LEM IV) par rapport aux données expérimentales et compte tenu des incertitudes associées à ces dernières pour les temps précoces (inférieurs à 60 min). Au contraire, une sous-estimation de la fraction de DSBs non rejoints est observée pour les simulations comparées aux données expérimentales pour les temps plus longs (240 min). De façon générale, la cinétique de réparation des DSBs est assez bien reproduite dans les simulations.

Remarquons également que la cinétique de réparation des DSBs entre la chaîne de calcul et le LEM IV est très similaire et ce, bien que les demi-vies n'ont pas été ajustées et ont été reprises directement du LEM IV comme mentionné précédemment. Cela montre que le nombre de DSBs ainsi que leur répartition spatiale simulé avec notre chaîne de calcul peuvent être directement utilisés dans le LEM IV afin de reproduire la cinétique de réparation des DSBs.

Dans la figure 5.10 sont représentées les fractions de DSBs non rejoints en fonction du temps pour des alphas de 85 keV/μm et pour différentes doses (1 Gy, 2 Gy, 3 Gy, 10 Gy et 68 Gy). Nous pouvons remarquer que plus la dose augmente et plus la fraction de DSBs non rejoints à un temps donné est importante. Cela pouvait être attendu puisque le nombre de DSBs augmente proportionnellement avec la dose.

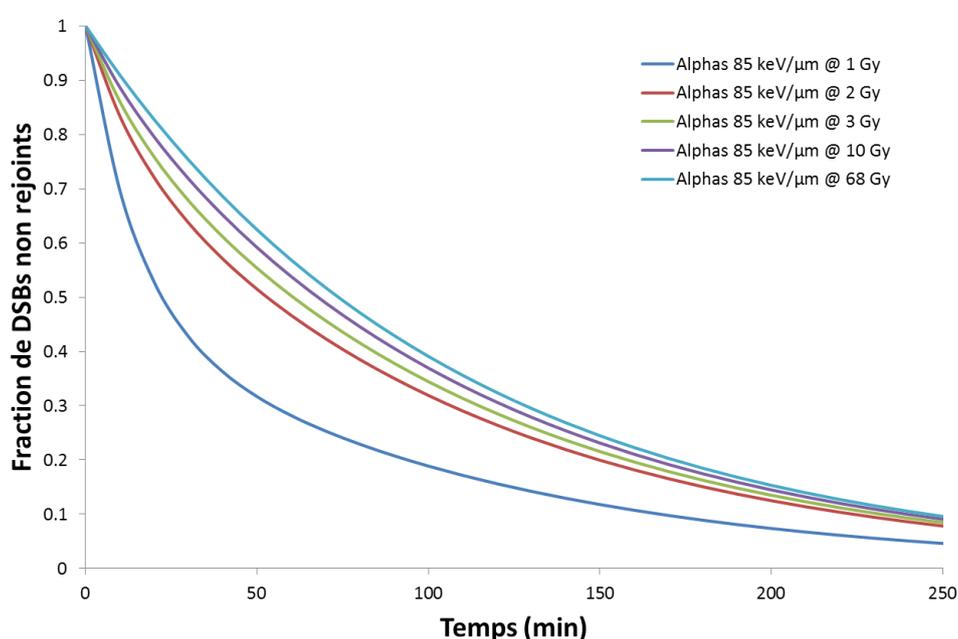


Figure 5.10 : Calculs de l'évolution de la fraction de DSBs non rejoints en fonction du temps pour des fibroblastes irradiés par des alphas de 85 keV/μm et pour différentes doses : 1 Gy, 2 Gy, 3 Gy, 10 Gy et 68 Gy.

Ensuite, l'expression de $U(t)$ proposée par Tommasino et al. [TOMMASINO et al., 2015] incluant cette fois-ci une fraction de DSBs non rejoints quel que soit le temps après irradiation (équation 5.27) a été appliquée. En effet, l'équation précédente (5.26) considérait que tous les DSBs seraient éventuellement rejoints après un temps t infini. Cependant, les expériences montrent qu'une part des DSBs non rejoints reste présente, même après des temps tardifs (> 24 h).

Des simulations concernant l'irradiation de fibroblastes en G0 pour des particules alphas de différents TELs (7 keV/μm, 70 keV/μm et 120 keV/μm) et pour une dose de 80 Gy ont été considérées. Les valeurs de F_{unrej} utilisées pour les valeurs de TEL correspondants figurent dans le tableau 5.1. L'évolution temporelle de la fraction des DSBs non rejoints a été comparée à des données expérimentales considérant les mêmes cellules, la même phase du cycle cellulaire (G0), les mêmes

TELS de particules alphas et la même dose (80 Gy) [LOBRICH et al., 1998] ainsi qu'aux résultats calculés lorsque l'équation sans F_{unrej} est utilisée (équation 5.26). Ces résultats sont représentés dans la figure 5.11 (alphas 7 keV/ μ m), dans la figure 5.12 (alphas 70 keV/ μ m), et dans la figure 5.13 (alphas 120 keV/ μ m). Les résultats expérimentaux ont été obtenus par élution après électrophorèse sur gel. Les paramètres τ_{fast} et τ_{slow} utilisés ici sont repris de la publication de [TOMMASINO et al., 2015] (Cf. Section 5.2.2.2).

Pour les alphas de 7 keV/ μ m, nous pouvons observer dans la figure 5.11 que les courbes d'évolution de la fraction de DSBs non rejoints avec ou sans le paramètre F_{unrej} sont superposées. En effet, compte tenu du faible TEL, F_{unrej} est très faible. Comme observé précédemment, l'évolution de la fraction de DSBs non rejoints est bien reproduite avec cependant, une légère surestimation des DSBs non rejoints pour les temps inférieurs à 5 h. Rappelons néanmoins que les valeurs des paramètres (τ_{fast} , τ_{slow} et F_{unrej}) sont directement reprises de [TOMMASINO et al., 2015] et n'ont pour le moment, pas été ajustés par rapport à nos simulations de l'irradiation de fibroblastes.

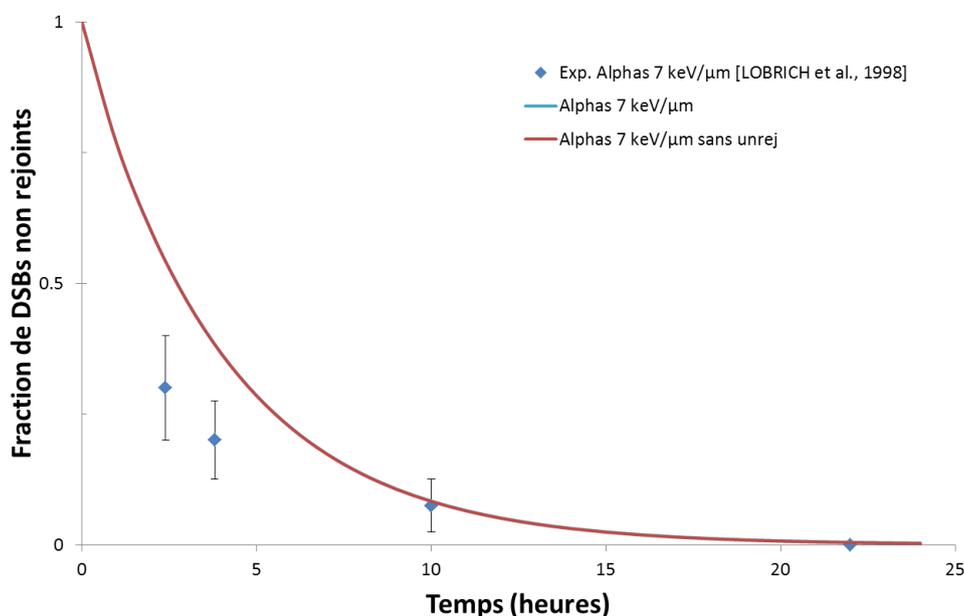


Figure 5.11 : Calculs de l'évolution de la fraction de DSBs non rejoints en fonction du temps avec F_{unrej} (en bleu) ou sans F_{unrej} (en rouge) pour des fibroblastes irradiés par des alphas de 7 keV/ μ m et pour une dose de 80 Gy. Les résultats sont comparés à des données expérimentales (points bleus) [LOBRICH et al., 1998].

En ce qui concerne les alphas de 70 keV/ μ m dans la figure 5.12, nous pouvons observer une différence à partir de 2-3 h après exposition lorsque l'on considère F_{unrej} . Nous obtenons un assez bon accord avec les données expérimentales : la prise en compte des DSBs non rejoints à des temps tardifs (> 10 h) permet de mieux reproduire les données expérimentales contrairement au cas où on ne considère pas F_{unrej} , ce qui était plus ou moins attendu étant donné que F_{unrej} est un paramètre

directement ajusté à partir des données expérimentales. Néanmoins, la fraction de DSBs non rejoints aux temps plus précoces (< 10 h) est légèrement surestimée dans le modèle.

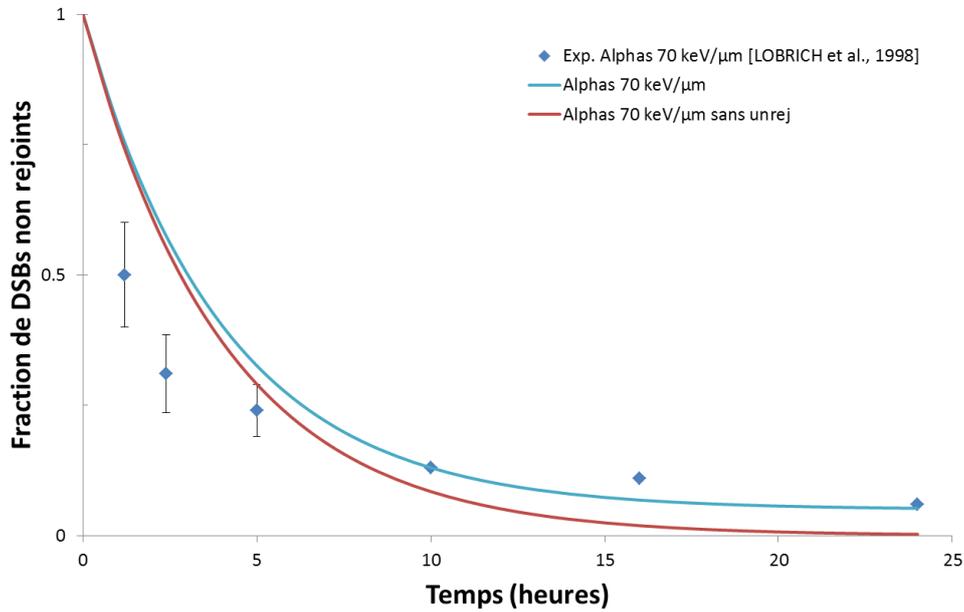


Figure 5.12 : Calculs de l'évolution de la fraction de DSBs non rejoints en fonction du temps avec F_{unrej} (en bleu) ou sans F_{unrej} (en rouge) pour des fibroblastes irradiés par des alphas de 70 keV/μm et pour une dose de 80 Gy. Les résultats sont comparés à des données expérimentales (points bleus) [LOBRICH et al., 1998].

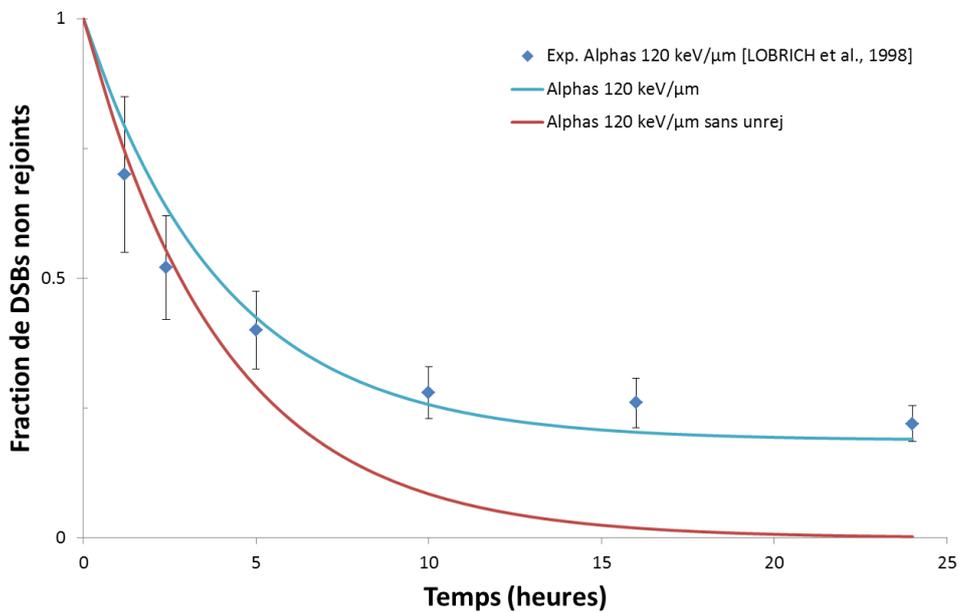


Figure 5.13 : Calculs de l'évolution de la fraction de DSBs non rejoints en fonction du temps avec F_{unrej} (en bleu) ou sans F_{unrej} (en rouge) pour des fibroblastes irradiés par des alphas de 120 keV/μm et pour une dose de 80 Gy. Les résultats sont comparés à des données expérimentales (points bleus) [LOBRICH et al., 1998].

Pour les alphas de 120 keV/ μm dans la figure 5.13, les différences entre le calcul par l'équation 5.26 ou l'équation 5.27 sont encore plus visibles. Nous pouvons remarquer un très bon accord entre l'évolution de la fraction de DSBs non rejoins obtenue par calcul et obtenu expérimentalement et ce, pour tous les temps considérés (0-24 h). Il est d'ailleurs clairement montré qu'une fraction de DSBs n'est pas rejointe jusqu'à 24 h.

Les résultats dans les figures 5.11, 5.12 et 5.13, montrent que la fraction de DSBs rejoins à un temps donné est plus importante lorsque le TEL d'un type de particule est élevé. De plus, la fraction F_{unrej} devient également de plus en plus importante au fur et à mesure que le TEL augmente. En effet, elle est d'environ 0,001 pour des alphas de 7 keV/ μm et augmente jusqu'à environ 0,2 pour des alphas de 120 keV/ μm . Cela s'explique par le fait que F_{unrej} est corrélé aux cDSBs et que, plus le TEL augmente, plus les dommages sont induits à proximité. Il y a donc un plus grand nombre de cDSBs, plus difficilement réparables pour la cellule et ce, même jusqu'à des temps tardifs (> 24h). Ces DSBs non réparés pourraient par la suite, être responsables de la mort cellulaire.

Nous venons donc de voir que les équations utilisées dans le LEM IV pour calculer la cinétique de réparation des DSBs étaient compatibles avec les données des iDSBs et cDSBs issues de nos simulations et ce, sans avoir à changer les paramètres. Nous pourrions dans le futur, améliorer la reproduction des données expérimentales en ajustant directement ces paramètres à nos données.

5.3.2 Application du modèle TLK pour le calcul des courbes de survie cellulaire

Le modèle TLK développé par Stewart [STEWART, 2001] a été utilisé conjointement avec les résultats issus de nos simulations afin de calculer les courbes de survie cellulaire.

Pour cela, le système des trois équations différentielles non-linéaires du premier ordre a été résolu en ajustant les cinq paramètres (λ_1 , λ_2 , β_1 , β_2 , et η) du modèle avec les données expérimentales et sont listés dans le tableau 5.2. Un temps t de 96 h après irradiation a été appliqué dans les équations avec un pas en temps de 0,001 h. L'équation 5.17 permet de calculer le nombre de lésions létales à ce temps t et dépend directement du nombre de DSBs simples et complexes (équations 5.15 et 5.16 respectivement). Ensuite l'application de l'équation 5.18 permet d'évaluer la fraction de survie cellulaire en se basant sur le nombre de lésions létales.

Les cinq paramètres sont indépendants du type de rayonnement et sont valables pour un type cellulaire donné. Les nombres de DSBs simples et complexes suite à l'irradiation, $L_1(0)$ et $L_2(0)$ respectivement, sont directement calculés par simulation pour les différentes doses considérées en utilisant l'algorithme de clusterisation DBScan. Toutes les simulations et les données expérimentales [BELLI et al., 2000 ; HAMADA et al., 2006] présentées dans cette partie concernent uniquement les cellules de type fibroblaste.

Tableau 5.2 : Valeurs des paramètres λ_1 , λ_2 , β_1 , β_2 , et η pour les cellules de type fibroblaste.

Paramètres	Valeurs
λ_1 : probabilité de réparation pour les DSBs simples (en h^{-1})	3
λ_2 : probabilité de réparation pour les DSBs complexes (en h^{-1})	0,03
β_1 : probabilité de mauvaise réparation létale pour les DSB simples	0,01
β_2 : probabilité de mauvaise réparation létale pour les DSB complexes	0,06
η : probabilité d'interaction entre deux DSBs pour former des lésions létales (en h^{-1})	0,002

Les courbes de survie cellulaire en fonction de la dose ont été calculées pour des protons de différents TELs (1,7 keV/ μ m, 7,5 keV/ μ m, et 27,2 keV/ μ m) et comparées aux données expérimentales de [BELLI et al., 2000] correspondant à des protons de 7,7 keV/ μ m dans la figure 5.14. La survie cellulaire a également été calculée pour des alphas de 7 keV/ μ m, 16,2 keV/ μ m et 132 keV/ μ m et comparée aux données expérimentales de [HAMADA et al., 2006] et de [NETI et al., 2004] correspondant à des alphas de 16,2 keV/ μ m et 132 keV/ μ m respectivement dans la figure 5.15.

Tout d'abord, nous pouvons observer dans la figure 5.14 que la courbe de survie cellulaire calculée après irradiation avec des protons de 7,5 keV/ μ m reproduit assez bien la courbe de survie expérimentale pour des protons de 7,7 keV/ μ m [BELLI et al., 2000]. Nous pouvons également remarquer que plus le TEL des protons augmente et plus la fraction de survie diminue pour une même dose. Par exemple, pour une dose de 2 Gy, la fraction de survie est d'environ 45% pour les protons de 1,7 keV/ μ m alors qu'elle n'est que d'environ 13% pour les protons de 27,2 keV/ μ m.

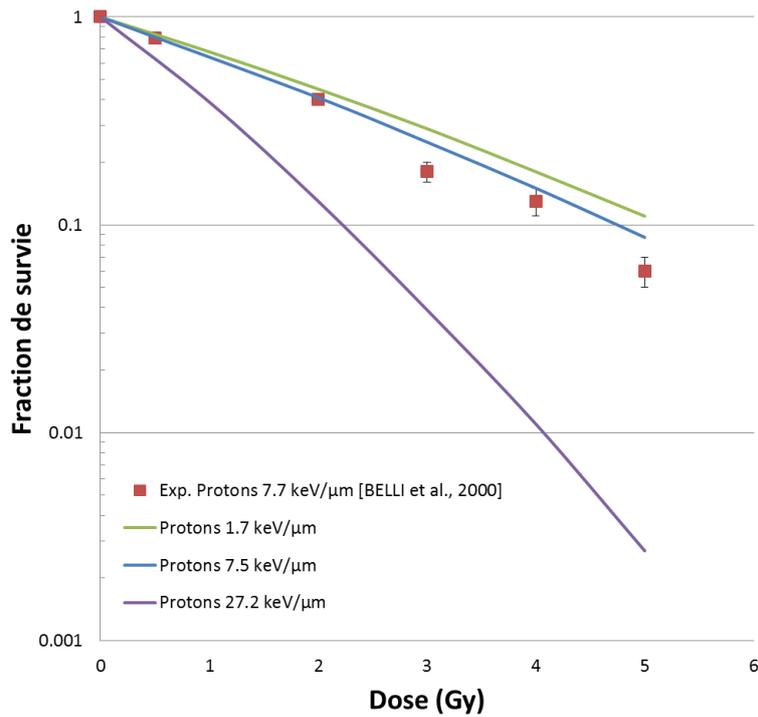


Figure 5.14 : Courbes de survie cellulaire en fonction de la dose calculées pour des protons de différents TELs (1,7 keV/μm, 7,5 keV/μm, et 27,2 keV/μm) et comparées aux données expérimentales de [BELLI et al., 2000] correspondant à des protons de 7,7 keV/μm.

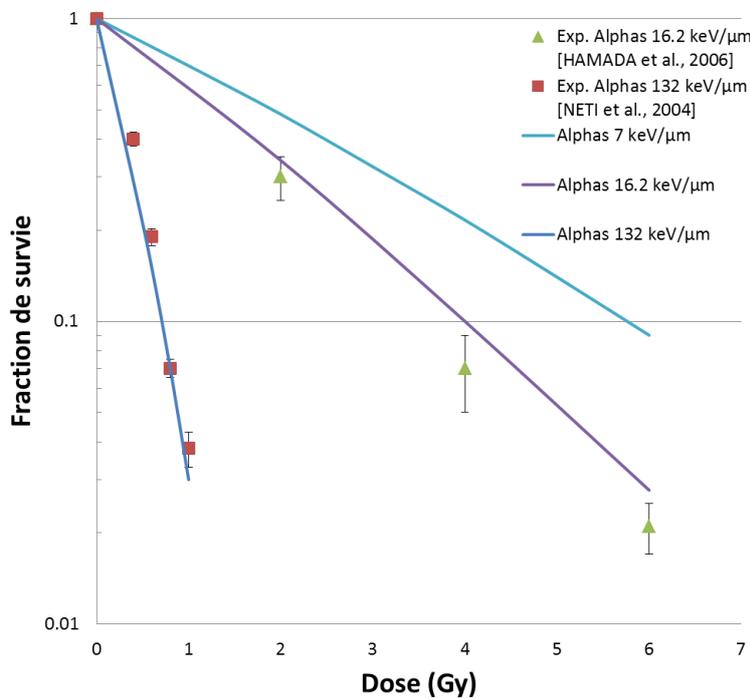


Figure 5.15 : Courbes de survie cellulaire en fonction de la dose calculées pour des alphas de différents TELs (7 keV/μm, 16,2 keV/μm et 132 keV/μm) et comparées aux données expérimentales de [HAMADA et al., 2006] correspondant à des alphas de 16,2 keV/μm et de [NETI et al., 2004] correspondant à des alphas de 132 keV/μm.

De même, dans la figure 5.15, les courbes de survie cellulaire des alphas de 16,2 keV/ μm et de 132 keV/ μm calculées sont en bon accord avec celles obtenues expérimentalement [NETI et al., 2004 ; HAMADA et al., 2006]. Nous pouvons observer encore une fois, que pour une dose donnée, la fraction de survie diminue lorsque le TEL de la particule augmente.

Soulignons qu'actuellement, la comparaison entre les courbes de survie calculées et les données expérimentales reste difficile compte tenu du peu de données disponibles dans la littérature concernant les cellules humaines pour des protons et des alphas. De plus, si l'on considère d'autres types cellulaires comme par exemple les lymphocytes ou les cellules endothéliales, il serait nécessaire d'obtenir des données expérimentales sur ces types cellulaires afin de pouvoir ajuster les paramètres du modèle pour ces derniers.

5.4 Conclusions du chapitre

Nous avons vu dans ce chapitre que les deux voies majeures de réparation des DSBs radio-induits, le NHEJ et le HR, présentaient des processus de réparation très complexes impliquant de nombreux facteurs et avec différentes sous-voies possibles. Ces deux voies de réparation dépendent de la phase du cycle cellulaire, de la complexité des dommages, de la compaction de la chromatine ainsi que de la présence de certaines protéines. Le NHEJ est utilisé durant tout le cycle cellulaire pour réparer principalement les DSBs simples et également ceux survenant dans l'euchromatine. Cette voie possède une cinétique de réparation rapide (C-NHEJ) ainsi qu'une cinétique lente (A-NHEJ, Resection-dependent C-NHEJ). Le HR, utilisé en phase S tardive et G2, possède une cinétique de réparation lente. Cette voie est principalement impliquée dans la réparation des DSBs complexes et/ou ayant lieu dans l'hétérochromatine.

Historiquement, les premiers modèles essayaient de reproduire les courbes de survie cellulaire expérimentales sans pour autant établir un lien entre les différents processus survenant entre l'induction des dommages à l'ADN et la mort cellulaire. Or, les processus de réparation des dommages à l'ADN sont des éléments clés dans le devenir cellulaire. Afin de mieux comprendre les différents mécanismes impliqués, plusieurs modèles d'extension ont été alors développés. Certains de ces modèles sont basés sur les modèles historiques et utilisent alors une approche analytique afin de refléter implicitement les mécanismes de réparation de l'ADN et de les lier à la mort cellulaire. Néanmoins, ces modèles dépendent fortement des données expérimentales du fait qu'ils les utilisent pour ajuster leurs différents paramètres.

Cependant, pour acquérir une meilleure compréhension de ces mécanismes, la modélisation mécanistique demeure le meilleur moyen. Des modèles mécanistiques ont donc également été développés et prennent en compte pour la plupart, les différents mécanismes impliqués dans les voies de réparation majeures. Cependant, il reste difficile de pouvoir modéliser la complexité totale de la

réparation. De plus, la plupart de ces modèles ne prennent pas en compte le niveau de compaction de la chromatine, qui est un paramètre majeur dans la réparation.

Dans ce travail de thèse, des modèles d'extension paramétriques ont été couplés aux simulations mécanistiques des dommages à l'ADN. Il a été montré que l'utilisation conjointe de ces modèles avec la simulation permettait de reproduire différentes données expérimentales en termes de cinétique de réparation des DSBs ou bien de mort cellulaire. Ceci constitue un premier pas vers la prédiction des effets tardifs et permettra notamment, d'établir d'autres modèles paramétriques pour d'autres finalités biologiques. Ces outils seront utilisés afin de pouvoir établir la chaîne de causalité entre les dommages à l'ADN obtenus par simulation et l'évolution du nombre de foyers γ -H2AX, de foyers persistants, la sénescence, la mort cellulaire. Tout cela sera pris en compte dans une EBR « multiparamétrique » (Cf. Section 5.3) afin de mieux étudier les effets d'un rayonnement donné et, par conséquent, d'améliorer les modèles de risque.

Références

- Ballarini, F., et Carante, M. P. (2016). Chromosome aberrations and cell death by ionizing radiation: Evolution of a biophysical model. *Radiation Physics and Chemistry*, 128, 18-25. <https://doi.org/10.1016/j.radphyschem.2016.06.009>
- Ballarini, F., Merzagora, M., Monforti, F., et al. (1999). Chromosome aberrations induced by light ions: Monte Carlo simulations based on a mechanistic model. *International Journal of Radiation Biology*, 75(1), 35-46.
- Belli, M., Bettega, D., Calzolari, P., et al. (2000). Inactivation of human normal and tumour cells irradiated with low energy protons. *International Journal of Radiation Biology*, 76(6), 831-839.
- Bodgi, L., Canet, A., Pujo-Menjouet, L., et al. (2016). Mathematical models of radiation action on living cells: From the target theory to the modern approaches. A historical and critical review. *Journal of Theoretical Biology*, 394, 93-101. <https://doi.org/10.1016/j.jtbi.2016.01.018>
- Brandsma, I., et Gent, D. C. (2012). Pathway choice in DNA double strand break repair: observations of a balancing act. *Genome Integrity*, 3, 9. <https://doi.org/10.1186/2041-9414-3-9>
- Carante, M. P., Aimè, C., Cajiao, J. J. T., et al. (2018). BIANCA, a biophysical model of cell survival and chromosome damage by protons, C-ions and He-ions at energies and doses used in hadrontherapy. *Physics in Medicine & Biology*, 63(7), 075007. <https://doi.org/10.1088/1361-6560/aab45f>
- Chen, Y., Li, J., Li, C., et al. (2017). A modified microdosimetric kinetic model for relative biological effectiveness calculation. *Physics in Medicine and Biology*, 63(1), 015008. <https://doi.org/10.1088/1361-6560/aa9a68>
- Curtis, S. B. (1986). Lethal and Potentially Lethal Lesions Induced by Radiation --- A Unified Repair Model. *Radiation Research*, 106(2), 252-270. <https://doi.org/10.2307/3576798>
- Dougllass, M., Bezak, E., et Penfold, S. (2015). Development of a radiation track structure clustering algorithm for the prediction of DNA DSB yields and radiation induced cell death in Eukaryotic cells. *Physics in Medicine and Biology*, 60(8), 3217-3236. <https://doi.org/10.1088/0031-9155/60/8/3217>
- Elkind, M. M., et Whitmore, G. F. (1967). The radiobiology of cultured mammalian cells. *Gordon and Breach, New York*.
- Elsässer, T., Cunrath, R., Krämer, M., et al. (2008). Impact of track structure calculations on biological treatment planning in ion radiotherapy. *New Journal of Physics*, 10(7), 075005. <https://doi.org/10.1088/1367-2630/10/7/075005>
- Elsässer, T., et Scholz, M. (2007). Cluster effects within the local effect model. *Radiation Research*, 167(3), 319-329. <https://doi.org/10.1667/RR0467.1>
- Elsässer, T., Weyrather, W. K., Friedrich, T., et al. (2010). Quantification of the relative biological effectiveness for ion beam radiotherapy: direct experimental comparison of proton and carbon ion beams and a novel approach for treatment planning. *International Journal of Radiation Oncology, Biology, Physics*, 78(4), 1177-1183. <https://doi.org/10.1016/j.ijrobp.2010.05.014>

- Falk, M., Lukasova, E., et Kozubek, S. (2010). Higher-order chromatin structure in DSB induction, repair and misrepair. *Mutation Research*, 704(1-3), 88-100. <https://doi.org/10.1016/j.mrrev.2010.01.013>
- Friedland, W., Kundrát, P., Schmitt, E., et al. (2019). Modeling studies on dicentric induction after sub-micrometer focused ion beam grid irradiation. *Radiation Protection Dosimetry*, 183(1-2), 40-44. <https://doi.org/10.1093/rpd/ncy266>
- Friedland, W., et Kundrát, P. (2013). Track structure based modelling of chromosome aberrations after photon and alpha-particle irradiation. *Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis*, 756(1), 213-223. <https://doi.org/10.1016/j.mrgentox.2013.06.013>
- Friedland, Werner, Jacob, P., et Kundrát, P. (2010). Stochastic Simulation of DNA Double-Strand Break Repair by Non-homologous End Joining Based on Track Structure Calculations. *Radiation Research*, 173(5), 677-688. <https://doi.org/10.1667/RR1965.1>
- Friedrich, T., Scholz, U., Elsässer, T., et al. (2012). Calculation of the biological effects of ion beams based on the microscopic spatial damage distribution pattern. *International Journal of Radiation Biology*, 88(1-2), 103-107. <https://doi.org/10.3109/09553002.2011.611213>
- Gillmann, C., Jäkel, O., Schlamp, I., et al. (2014). Temporal lobe reactions after carbon ion radiation therapy: comparison of relative biological effectiveness-weighted tolerance doses predicted by local effect models I and IV. *International Journal of Radiation Oncology, Biology, Physics*, 88(5), 1136-1141. <https://doi.org/10.1016/j.ijrobp.2013.12.039>
- Goodhead, D. T. (1985). Saturable repair models of radiation action in mammalian cells. *Radiation Research. Supplement*, 8, S58-67.
- Hamada, N., Funayama, T., Wada, S., et al. (2006). LET-Dependent Survival of Irradiated Normal Human Fibroblasts and Their Descendants. *Radiation Research*, 166(1), 24-30. <https://doi.org/10.1667/RR3579.1>
- 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. *Radiation Research*, 160(1), 61-69.
- Herr, L. (2015). *Modeling of time-dose-LET effects in the cellular response to radiation* (Thèse). Technische Universität Darmstadt.
- Heyer, W.-D., Ehmsen, K. T., et Liu, J. (2010). Regulation of Homologous Recombination in Eukaryotes. *Annual Review of Genetics*, 44(1), 113-139. <https://doi.org/10.1146/annurev-genet-051710-150955>
- Iliakis, G., Wang, H., Perrault, A. R., et al. (2004). Mechanisms of DNA double strand break repair and chromosome aberration formation. *Cytogenetic and Genome Research*, 104(1-4), 14-20. <https://doi.org/10.1159/000077461>
- Jeggo, P. A., et Löbrich, M. (2007). DNA double-strand breaks: their cellular and clinical impact? *Oncogene*, 26(56), 7717-7719. <https://doi.org/10.1038/sj.onc.1210868>
- Kaltenbach, S. (2015). *Rôle des facteurs de la réparation de l'ADN dans la dynamique du génome au sein du système immunitaire* (Thèse). Université Paris Descartes.
- Karanam, K., Kafri, R., Loewer, A., et al. (2012). Quantitative live cell imaging reveals a gradual shift between DNA repair mechanisms and a maximal use of HR in mid S phase. *Molecular Cell*, 47(2), 320-329. <https://doi.org/10.1016/j.molcel.2012.05.052>

- Kase, Y., Kanai, T., Matsumoto, Y., et al. (2006). Microdosimetric Measurements and Estimation of Human Cell Survival for Heavy-Ion Beams. *Radiation Research*, 166(4), 629-638. <https://doi.org/10.1667/RR0536.1>
- Lea, D. E. (1946). Actions of radiations on living cells. *Cambridge University Press, London*.
- Löbrich, M., Cooper, P. K., et Rydberg, B. (1998). Joining of Correct and Incorrect DNA Ends at Double-Strand Breaks Produced by High-Linear Energy Transfer Radiation in Human Fibroblasts. *Radiation Research*, 150(6), 619-626. <https://doi.org/10.2307/3579884>
- Löbrich, M., et Jeggo, P. (2017). A Process of Resection-Dependent Nonhomologous End Joining Involving the Goddess Artemis. *Trends in Biochemical Sciences*, 42(9), 690-701. <https://doi.org/10.1016/j.tibs.2017.06.011>
- McMahon, S. J., McNamara, A. L., Schuemann, J., et al. (2017). A general mechanistic model enables predictions of the biological effectiveness of different qualities of radiation. *Scientific Reports*, 7(1), 10790. <https://doi.org/10.1038/s41598-017-10820-1>
- McVey, M., et Lee, S. E. (2008). MMEJ repair of double-strand breaks (director's cut): deleted sequences and alternative endings. *Trends in genetics : TIG*, 24(11), 529-538. <https://doi.org/10.1016/j.tig.2008.08.007>
- Murray, J. M., Stiff, T., et Jeggo, P. A. (2012). DNA double-strand break repair within heterochromatic regions. *Biochemical Society Transactions*, 40(1), 173-178. <https://doi.org/10.1042/BST20110631>
- Neti, P. V. S. V., Toledo, S. M. de, Perumal, V., et al. (2004). A Multi-port Low-Fluence Alpha-Particle Irradiator: Fabrication, Testing and Benchmark Radiobiological Studies. *Radiation Research*, 161(6), 732-738. <https://doi.org/10.1667/RR3181>
- Nguyen, H. Q., To, N. H., Zadigue, P., et al. (2018). Ionizing radiation-induced cellular senescence promotes tissue fibrosis after radiotherapy. A review. *Critical Reviews in Oncology/Hematology*, 129, 13-26. <https://doi.org/10.1016/j.critrevonc.2018.06.012>
- Rossi, H. H., et Kellerer, A. M. (1972). Radiation Carcinogenesis at Low Doses. *Science*, 175(4018), 200-202. <https://doi.org/10.1126/science.175.4018.200>
- Rothkamm, K., Krüger, I., Thompson, L. H., et al. (2003). Pathways of DNA double-strand break repair during the mammalian cell cycle. *Molecular and Cellular Biology*, 23(16), 5706-5715. <https://doi.org/10.1128/mcb.23.16.5706-5715.2003>
- Štafa, A., Donnianni, R. A., Timashev, L. A., et al. (2014). Template Switching During Break-Induced Replication Is Promoted by the Mph1 Helicase in *Saccharomyces cerevisiae*. *Genetics*, 196(4), 1017-1028. <https://doi.org/10.1534/genetics.114.162297>
- Stenerlöv, B., Höglund, E., Carlsson, J., et al. (2000). Rejoining of DNA fragments produced by radiations of different linear energy transfer. *International Journal of Radiation Biology*, 76(4), 549-557.
- Stewart, R. D. (2001). Two-Lesion Kinetic Model of Double-Strand Break Rejoining and Cell Killing. *Radiation Research*, 156(4), 365-378. [https://doi.org/10.1667/0033-7587\(2001\)156\[0365:TLKMOD\]2.0.CO;2](https://doi.org/10.1667/0033-7587(2001)156[0365:TLKMOD]2.0.CO;2)
- Taleei, R., Girard, P. M., et Nikjoo, H. (2015). DSB repair model for mammalian cells in early S and G1 phases of the cell cycle: application to damage induced by ionizing radiation of different

- quality. *Mutation Research. Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis*, 779, 5-14. <https://doi.org/10.1016/j.mrgentox.2015.01.007>
- Taleei, R., et Nikjoo, H. (2013). Biochemical DSB-repair model for mammalian cells in G1 and early S phases of the cell cycle. *Mutation Research*, 756(1-2), 206-212. <https://doi.org/10.1016/j.mrgentox.2013.06.004>
- Tobias, C. A. (1985). The Repair-Misrepair Model in Radiobiology: Comparison to Other Models. *Radiation Research*, 104(2), S77-S95. <https://doi.org/10.2307/3576635>
- Tommasino, F., Friedrich, T., Scholz, U., et al. (2013). A DNA double-strand break kinetic rejoining model based on the local effect model. *Radiation Research*, 180(5), 524-538. <https://doi.org/10.1667/RR13389.1>
- Tommasino, F., Friedrich, T., Scholz, U., et al. (2015). Application of the local effect model to predict DNA double-strand break rejoining after photon and high-LET irradiation. *Radiation Protection Dosimetry*, 166(1-4), 66-70. <https://doi.org/10.1093/rpd/ncv164>
- Wang, F., Zhu, S., Fisher, L. A., et al. (2019). Phosphatase 1 Nuclear Targeting Subunit Mediates Recruitment and Function of Poly (ADP-Ribose) Polymerase 1 in DNA Repair. *Cancer Research*, 79(10), 2526-2535. <https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-18-1673>
- Wu, H., Furusawa, Y., George, K., et al. (2002). Analysis of Unrejoined Chromosomal Breakage in Human Fibroblast Cells Exposed to Low- and High-LET Radiation. *Journal of Radiation Research*, 43(Suppl), S181-S185. <https://doi.org/10.1269/jrr.43.S181>

Conclusions et perspectives

L'objectif principal du projet ROSIRIS à l'IRSN est de développer un outil prédictif du risque associé à une exposition aux rayonnements ionisants sur la base d'une meilleure compréhension de la relation de causalité entre la qualité d'un rayonnement ionisant (par exemple, type de particule, énergie, dose absorbée...) et les effets biologiques qui dépendent de la nature de la cible (par exemple, type cellulaire, compaction de la chromatine...). Lorsque l'on s'intéresse en particulier à l'étude des dommages à l'ADN, il devient nécessaire de connaître avec précision la topologie des dépôts d'énergie à cette échelle. Ceci est possible en utilisant des simulations Monte-Carlo de type « structure de traces » combinées à une description de la géométrie de la cible d'ADN avec la résolution requise pour le calcul. Dans le cadre du programme ROSIRIS, plusieurs travaux ont été menés à l'IRSN depuis 2010 afin de contribuer au développement du code Monte-Carlo Geant4 et son extension Geant4-DNA qui permet de réaliser des simulations de ce type [VILLAGRASA et al., 2011]. En outre, différentes géométries de la cible d'ADN ont été construites et rendues publiques au sein de la collaboration Geant4 [DOS SANTOS, 2013]. Plus récemment, lors de la thèse de Sylvain Meylan au LDRI (2013-2016), une chaîne de calcul des dommages à l'ADN Geant4-DNA a été développée permettant les simulations des étapes physique, physico-chimique et chimique dans des noyaux cellulaires humains en phase G0/G1 du cycle cellulaire. Egalement, un logiciel a été développé (DnaFabric) permettant la modélisation multi-échelles de l'ADN allant de la paire de nucléotides aux différents territoires chromosomiques au sein d'une cellule en phase G0/G1 du cycle cellulaire ainsi que son intégration et son utilisation au sein de la chaîne de simulation [MEYLAN, 2016].

Le travail de thèse présenté dans ce manuscrit s'encadre donc dans la continuité de ce sujet à l'IRSN (projet ROSIRIS), ainsi que dans la poursuite de la contribution de l'IRSN aux collaborations Geant4 et Geant4-DNA. La première partie de ce travail de thèse a consisté tout d'abord, à modifier la partie chimique de la chaîne de simulation au niveau des réactions chimiques considérées. De nouvelles réactions ont été prises en compte entre les différents radicaux libres et l'ADN en suivant l'approche adoptée par [LAMPE et al., 2018] dans le but d'obtenir une simulation plus fidèle de la chimie. Par ailleurs, une application Geant4 basée sur la chaîne de simulation a été développée et délivrée à la collaboration Geant4-DNA sous la forme d'un exemple en juin 2019 (H.N. Tran, 2019). Cette application utilise les nouvelles réactions implémentées dans ce travail de thèse et considère une géométrie d'ADN représentant un fragment de fibre de chromatine généré à partir de DnaFabric.

Puis, une étude sur l'influence du rapport du volume de l'ADN nucléaire sur le volume du noyau cellulaire sur les dommages radio-induits précoces à l'ADN a été effectuée [TANG et al., 2019a]. Pour cela, des simulations d'irradiations avec des ions (protons et alphas) ont été effectuées sur trois modèles de noyaux de cellules humaines développés avec DnaFabric lors de la thèse précédente [MEYLAN, 2016]. Ces modèles correspondent à des noyaux de fibroblastes, de lymphocytes et de cellules endothéliales présentant des caractéristiques morphologiques différentes. Il a été montré

que le nombre de dommages augmente en termes de DSB/Gy/Gbp lorsque le volume nucléaire de la cellule augmente, et augmente en termes de DSB/pp/ μm lorsque le rapport du volume de l'ADN nucléaire sur le volume du noyau cellulaire augmente. Également, l'influence du type de particule sur le nombre de dommages à l'ADN a été étudiée. Plus de dommages ont été observés pour une irradiation avec des protons que pour une irradiation avec des particules alphas pour un même TEL.

Ensuite, une nouvelle méthodologie permettant de calculer les DSBs a été développée dans ce travail de thèse. En effet, l'utilisation de l'algorithme de clusterisation DBScan est propre à la chaîne de calcul (Cf. Chapitre 2 - Section 2.3.3). Dans le but de pouvoir comparer les résultats issus de nos simulations avec les résultats d'autres codes, il est alors préférable de se baser sur leur définition des DSBs. Cela a permis notamment le calcul des fragments d'ADN ainsi que la comparaison avec le code de calcul PARTRAC. Ces calculs ont mis en évidence que le nombre de fragments d'ADN de petite taille augmentait lorsque le TEL d'un type de particule donné augmentait. Il se pourrait alors que ces fragments mènent à une apparition plus fréquente d'aberrations chromosomiques et donc, de mort cellulaire.

En ce qui concerne l'influence de la compaction de la chromatine sur l'induction des dommages radio-induits précoces à l'ADN, il a été d'abord nécessaire d'implémenter un nouveau modèle géométrique dans la simulation. En effet, la représentation de l'ADN ne prenait en compte que l'hétérochromatine (forme condensée) [MEYLAN, 2016], qui ne représente qu'un des deux niveaux de compaction de la chromatine. L'implémentation de l'euchromatine (forme décondensée) a permis de générer des noyaux de cellules endothéliales (HUVECs) réalistes comprenant les deux niveaux de compaction en se basant sur les proportions obtenues expérimentalement par les radiobiologistes de l'IRSN [TANG et al., 2019b]. L'utilisation de ces nouveaux modèles dans la simulation a montré que l'hétérochromatine permettait de protéger l'ADN vis-à-vis de l'induction des dommages radio-induits. Cela a été expliqué par le fait que l'hétérochromatine possède une concentration plus élevée de nucléosomes et donc, d'histones. Or, les histones possèdent un rôle protecteur contre les attaques par les radicaux libres produits lors du passage des rayonnements ionisants dans la matière biologique et à l'origine des dommages indirects, majoritaires par rapport aux dommages directs. La complexité des dommages quant à elle, reste similaire entre l'hétérochromatine et l'euchromatine. Il devient alors évident que la répartition spatiale des dommages à l'ADN au sein d'un noyau cellulaire va dépendre de la répartition spatiale de l'hétérochromatine et de l'euchromatine. Le nombre de dommages, leur complexité ainsi que leur localisation jouant un rôle important dans le devenir cellulaire [BALLARINI et CARANTE, 2016], la prise en compte de géométries réalistes de noyaux cellulaires va permettre d'obtenir une distribution plus précise des dommages à l'ADN en fonction des régions d'hétérochromatine et d'euchromatine et ainsi, permettre une meilleure modélisation des dommages.

Il a également été mis en évidence le besoin de modifier la durée de la simulation de l'étape chimique qui était initialement fixée à 2,5 ns. Le passage d'une durée de 2,5 ns à 10 ns semble mieux adapté

pour reproduire la distance parcourue par le radical OH^{*}, responsable majeur des dommages indirects [ROOTS et OKADA, 1975].

De manière générale, les résultats concernant les dommages précoces à l'ADN induits par des protons ou des alphas n'ont pu être comparés qu'à très peu de résultats expérimentaux. En effet, il existe dans la littérature un manque de données s'intéressant aux dommages précoces dans des cellules humaines de type fibroblaste, lymphocyte ou endothéliale pour ces types de rayonnement. Pour répondre à ce besoin, des études sont actuellement menées par les radiobiologistes de l'IRSN en utilisant la plateforme d'irradiation du microfaisceau d'ions dédié à la radiobiologie des communications intra et inter cellulaire (MIRCOM). Ces expériences vont également permettre de quantifier le nombre de dommages survenant dans les régions distinctes d'hétérochromatine et d'euchromatine ce qui nous permettra de confronter les résultats expérimentaux aux simulations. Les paramètres de la simulation pourront ainsi être ajustés et validés.

Jusqu'à présent, seules les irradiations protons et alphas étaient considérées dans les simulations [DOS SANTOS, 2013 ; MEYLAN, 2016]. Or, la plupart des données expérimentales que l'on peut trouver dans la littérature concernent les irradiations photon et notamment celles réalisées à l'IRSN auprès de nos installations d'irradiation SARRP et Alphée. Il est alors devenu nécessaire de considérer ce type de rayonnement dans nos simulations. Cependant, la simulation du dépôt d'énergie à l'échelle d'une population cellulaire voire de l'ADN avec une précision nanométrique lors d'une irradiation nécessite de mettre en place une méthode de calcul particulière permettant de relier nos études micro/nanodosimétriques à la dose moyenne absorbée utilisée dans les expériences et ceci, pour des temps de calcul raisonnables. Cette méthode, basée sur la génération et l'utilisation d'un espace des phases des électrons secondaires au niveau des cellules irradiées, a été présentée dans le chapitre 4 (Cf. Section 4.1.2) de cette thèse et utilisée pour réaliser deux études différentes dans ce travail.

Une première étude portant sur la comparaison des dommages précoces à l'ADN induits par des irradiations de cellules endothéliales (HUVECs) en utilisant des RX de différentes énergies (40 kVp, 220 kVp et 4 MVp). Ces irradiations ont été effectuées par les radiobiologistes de l'IRSN [FRENEAU et al., 2018] et les données expérimentales ont été directement confrontées pour la première fois aux données simulées. Pour différentes doses absorbées, l'étude de la distribution d'énergie spécifique dans les cellules irradiées a été réalisée pour différents spectres et comparée à des calculs microdosimétriques ainsi qu'à la distribution de foyers mesurée. La largeur de ces distributions microdosimétriques est assez similaire entre le 40 et le 220 kVp mais reste plus importante par rapport au 4 MVp. De plus, en s'intéressant au calcul des dommages à l'ADN (nanodosimétrie), il a été mis en évidence que les RX de faibles énergies i.e. 40 kVp et 220 kVp, induisaient plus de DSBs que les RX de plus haute énergie (4 MVp). Cela a résulté en une EBR égale à 1,3 ce qui est en accord avec les données de foyers γ -H2AX obtenues expérimentalement à l'IRSN mais également avec celles de la littérature. En termes de comparaison du nombre absolu de DSBs et de foyers γ -H2AX, nous avons toujours obtenu autant ou plus de DSBs simulés que de foyers γ -H2AX obtenus expérimentalement avec des valeurs allant de 1 à 1,5 DSBs pour 1 γ -H2AX. Cependant, leur comparaison directe en absolu demeure difficile

en raison de plusieurs facteurs comme la taille des foyers γ -H2AX [TOMMASINO et al., 2015a], le temps auquel on observe ces foyers (30 minutes post-irradiation) [FALK et al., 2010], la cinétique de formation et de disparition des foyers selon le niveau de compaction de la chromatine [FALK et al., 2010], et les chevauchements des foyers lors de la détection par microscopie [BARBIERI, 2019].

La deuxième étude concernant les irradiations photon a porté sur l'irradiation de cellules de levure, *Saccharomyces cerevisiae*, par une source de Césium-137. Ce travail a été réalisé en collaboration avec le Laboratoire des télomères et réparation du chromosome du CEA qui cherchait à comprendre le lien entre les dommages à l'ADN, la réparation des dommages et la mort cellulaire. Pour cela, le noyau de la levure a été modélisé dans DnaFabric montrant ainsi ses diverses applications. Les simulations ont permis d'écarter l'hypothèse que la nature et la complexité des dommages étaient les seules responsables de la mort cellulaire chez la levure. Il semblerait donc que d'autres mécanismes seraient également impliqués. D'autres pistes seront explorées prochainement afin de mieux comprendre ces observations comme par exemple, les dommages aux organites présents dans la cellule.

Enfin, une partie de cette thèse a été consacrée à réaliser une revue de la littérature concernant les différents modèles et approches développés afin d'étendre la simulation aux effets biologiques plus tardifs. Cette étude bibliographique m'a mené à identifier deux modèles paramétriques (LEM IV pour la cinétique de réparation des DSBs [TOMMASINO et al., 2015b], TLK pour la survie cellulaire [STEWART, 2001]) qui pourraient être pris comme base du futur développement d'un modèle multiparamétrique de calcul d'EBR dans le cadre du projet ROSIRIS. J'ai utilisé ces deux modèles conjointement avec les résultats issus de la modélisation mécanistique des dommages à l'ADN, afin de pouvoir calculer des effets plus tardifs comme l'évolution des DSBs en fonction du temps ou la survie cellulaire.

Les différents résultats exposés dans cette partie ont montré que l'utilisation des dommages simulés dans les modèles paramétriques permettait de bien reproduire les données expérimentales. Dans le cadre du programme de recherche ROSIRIS, cette méthodologie pourra donc être utilisée pour le calcul d'autres finalités biologiques telles que les foyers γ -H2AX persistants et la sénescence. En effet, nous avons montré que l'EBR, généralement basée sur la mort cellulaire, montrait des limites pour les modèles de risque. Il est alors prévu d'établir une EBR de type multiparamétrique afin de prendre en considération plusieurs finalités biologiques autres que la mort cellulaire. Nous pourrons ainsi mieux caractériser les effets d'un rayonnement ionisant donné, et ainsi, améliorer la prédiction du risque.

Dans la suite de ce projet, il est prévu de générer d'autres modèles de noyaux cellulaires comprenant une répartition spatiale d'hétérochromatine et d'euchromatine comme celui du fibroblaste, à partir des données expérimentales qui seront obtenues à l'IRSN. Les différents modèles géométriques des noyaux cellulaires générés au cours de cette thèse seront également fournis à la collaboration Geant4-DNA dans le but de pouvoir établir une bibliothèque de géométries disponible pour les chercheurs en

accès libre. Il serait également intéressant d'étendre les modèles géométriques ainsi que les modèles d'extension des effets biologiques aux autres phases du cycle cellulaire comme la phase G2, afin d'étudier l'influence de la phase du cycle sur les dommages à l'ADN. Cela permettra notamment d'étudier les voies de réparation qui sont impliquées spécifiquement dans cette phase (recombinaison homologue) et de pouvoir comparer les modèles d'extension aux effets tardifs à plus de données expérimentales afin de les valider. Dans la continuité du programme ROSIRIS, d'autres types de rayonnement seront considérés comme les ions carbone lors des futures expériences avec MIRCOM.

Références

- Ballarini, F., et Carante, M. P. (2016). Chromosome aberrations and cell death by ionizing radiation: Evolution of a biophysical model. *Radiation Physics and Chemistry*, 128, 18-25.
<https://doi.org/10.1016/j.radphyschem.2016.06.009>
- Barbieri, S. (2019). *DNA damage by charged and neutral radiation at different spatial and temporal scales: integrating Monte Carlo simulations with in vitro experiments* (Thèse). Université Pavie.
- Dos Santos, M. (2013). *Modélisation de la topologie des dépôts d'énergie créés par un rayonnement ionisant à l'échelle nanométrique dans les noyaux cellulaires et relation avec les événements précoces radio-induits* (Thèse). Université Bordeaux.
- Falk, M., Lukasova, E., et Kozubek, S. (2010). Higher-order chromatin structure in DSB induction, repair and misrepair. *Mutation Research*, 704(1-3), 88-100.
<https://doi.org/10.1016/j.mrrev.2010.01.013>
- Freneau, A., Dos Santos, M., Voisin, P., et al. (2018). Relation between DNA double-strand breaks and energy spectra of secondary electrons produced by different X-ray energies. *International Journal of Radiation Biology*, 1-10. <https://doi.org/10.1080/09553002.2018.1518612>
- Lampe, N., Karamitros, M., Breton, V., et al. (2018). Mechanistic DNA damage simulations in Geant4-DNA Part 2: Electron and proton damage in a bacterial cell. *Physica Medica: PM: An International Journal Devoted to the Applications of Physics to Medicine and Biology: Official Journal of the Italian Association of Biomedical Physics (AIFB)*, 48, 146-155.
<https://doi.org/10.1016/j.ejmp.2017.12.008>
- Meylan, S. (2016). *Développement d'un outil de simulation multi-échelles adapté au calcul des dommages radio-induits précoces dans des cellules exposées à des irradiations d'ions légers (proton et alpha)* (Thèse). Université Bordeaux.
- Roots, R., et Okada, S. (1975). Estimation of life times and diffusion distances of radicals involved in x-ray-induced DNA strand breaks of killing of mammalian cells. *Radiation Research*, 64(2), 306-320.
- Stewart, R. D. (2001). Two-Lesion Kinetic Model of Double-Strand Break Rejoining and Cell Killing. *Radiation Research*, 156(4), 365-378.
[https://doi.org/10.1667/0033-7587\(2001\)156\[0365:TLKMOD\]2.0.CO;2](https://doi.org/10.1667/0033-7587(2001)156[0365:TLKMOD]2.0.CO;2)
- Tang, N., Bueno, M., Meylan, S., et al. (2019a). Influence of chromatin compaction on simulated early radiation-induced DNA damage using Geant4-DNA. *Medical Physics*, 46(3), 1501-1511.
<https://doi.org/10.1002/mp.13405>
- Tang, N., Bueno, M., Meylan, S., et al. (2019b). Simulation of early radiation-induced DNA damage on different types of cell nuclei. *Radiation Protection Dosimetry*, 183(1-2), 26-31.
<https://doi.org/10.1093/rpd/ncy237>
- Tommasino, F., Friedrich, T., Jakob, B., et al. (2015a). Induction and Processing of the Radiation-Induced Gamma-H2AX Signal and Its Link to the Underlying Pattern of DSB: A Combined Experimental and Modelling Study. *PLOS ONE*, 10(6), e0129416.
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0129416>

- Tommasino, F., Friedrich, T., Scholz, U., et al. (2015b). Application of the local effect model to predict DNA double-strand break rejoining after photon and high-LET irradiation. *Radiation Protection Dosimetry*, 166(1-4), 66-70. <https://doi.org/10.1093/rpd/ncv164>
- Villagrasa, C., Francis, Z., et Incerti, S. (2011). Physical models implemented in the GEANT4-DNA extension of the GEANT-4 toolkit for calculating initial radiation damage at the molecular level. *Radiation Protection Dosimetry*, 143(2-4), 214-218. <https://doi.org/10.1093/rpd/ncq537>

Contributions scientifiques

Publications dans des revues à comité de lecture :

D. Sakata, N. Lampe, M. Karamitros, I. Kyriakou, O. Belov, M.A. Bernal, D. Bolst, M.-C. Bordage, V. Breton, J.M.C. Brown, Z. Francis, V. Ivanchenko, S. Meylan, K. Murakami, S. Okada, I. Petrovic, A. Ristic-Fira, G. Santin, D. Sarramia, T. Sasaki, W.-G. Shin, **N. Tang**, H.N. Tran, C. Villagrasa, D. Emfietzoglou, P. Nieminen, S. Guatelli, S. Incerti. Evaluation of early radiation DNA damage in a fractal cell nucleus model using Geant4-DNA. *Phys Med*. 2019;62:152-157. doi:[10.1016/j.ejmp.2019.04.010](https://doi.org/10.1016/j.ejmp.2019.04.010).

G. Gonon, C. Villagrasa, P. Voisin, S. Meylan, M. Bueno, M.A. Benadjaoud, **N. Tang**, F. Langner, H. Rabus, J.-F. Barquinero, U. Giesen, G. Gruel. From Energy Deposition of Ionizing Radiation to Cell Damage Signaling: Benchmarking Simulations by Measured Yields of Initial DNA Damage after Ion Microbeam Irradiation. *Radiation Research*. 2019;191(6):566-584. doi:[10.1667/RR15312.1](https://doi.org/10.1667/RR15312.1).

N. Tang, M. Bueno, S. Meylan, S. Incerti, H.N. Tran, A. Vaurijoux, G. Gruel, C. Villagrasa. Influence of chromatin compaction on simulated early radiation-induced DNA damage using Geant4-DNA. *Med Phys*. 2019;46(3):1501-1511. doi:[10.1002/mp.13405](https://doi.org/10.1002/mp.13405).

N. Tang, M. Bueno, S. Meylan, S. Incerti, I. Clairand, C. Villagrasa. Simulation of early radiation-induced DNA damage on different types of cell nuclei. *Radiat Prot Dosimetry*. 2019;183(1-2):26-31. doi:[10.1093/rpd/ncy237](https://doi.org/10.1093/rpd/ncy237).

A. Freneau, M. Dos Santos, P. Voisin, **N. Tang**, M. Bueno Vizcarra, C. Villagrasa, L. Roy, A. Vaurijoux, G. Gruel. Relation between DNA double-strand breaks and energy spectra of secondary electrons produced by different X-ray energies. *Int J Radiat Biol*. September 2018:1-10. doi:[10.1080/09553002.2018.1518612](https://doi.org/10.1080/09553002.2018.1518612).

S. Incerti, I. Kyriakou, M.A. Bernal, M.C. Bordage, Z. Francis, S. Guatelli, V. Ivanchenko, M. Karamitros, N. Lampe, S.B. Lee, S. Meylan, C.H. Min, W.G. Shin, P. Nieminen, D. Sakata, **N. Tang**, C. Villagrasa, H.N. Tran, J.M.C. Brown. Geant4-DNA example applications for track structure simulations in liquid water: A report from the Geant4-DNA Project. *Medical Physics*. 2018;45(8):e722-e739. doi:[10.1002/mp.13048](https://doi.org/10.1002/mp.13048).

S. Meylan, S. Incerti, M. Karamitros, **N. Tang**, M. Bueno, I. Clairand, C. Villagrasa. Simulation of early DNA damage after the irradiation of a fibroblast cell nucleus using Geant4-DNA. *Scientific Reports*. 2017;7(1):11923. doi:[10.1038/s41598-017-11851-4](https://doi.org/10.1038/s41598-017-11851-4).

N. Tang, M. Bueno, S. Meylan, Y. Perrot, H.N. Tran, A. Freneau, M. Dos Santos, A. Vaurijoux, G. Gruel, M. A. Bernal, M.-C. Bordage, D. Emfietzoglou, Z. Francis, S. Guatelli, V. Ivanchenko, M. Karamitros, I. Kyriakou, W.-G. Shin, S. Incerti, C. Villagrasa. Assessment of the biological response of endothelial cells irradiated with 40 kVp, 220 kVp and 4 MV X-rays by means of micro and nanodosimetric calculations. *International Journal of Molecular Sciences*. (soumis).

Communications internationales :

N. Tang, M. Bueno, S. Meylan, S. Incerti, C. Villagrasa, **Octobre 2018**, *Influence of chromatin compaction on simulated early radiation-induced DNA damage using Geant4-DNA*. **Oral** au 3rd Geant4 International User Conference at the Physics-Medicine-Biology frontier, Bordeaux, France.

N. Tang, M. Bueno, S. Meylan, S. Incerti, C. Villagrasa, **Mai-Juin 2018**, *Influence of chromatin compaction on early radiation-induced DNA damage*. **Oral** au 15th International Workshop on Radiation damage to DNA, Aussois, France.

N. Tang, M. Bueno, S. Meylan, I. Clairand, S. Incerti, C. Villagrasa, **Novembre 2017**, *Simulation of early radiation-induced DNA damage on different types of cell nuclei*. **Oral** au 17th International Symposium on Microdosimetry, Venise, Italie.

N. Tang, M. Bueno, S. Meylan, I. Clairand, S. Incerti, C. Villagrasa, **Septembre 2017**, *Simulation of early radiation-induced DNA damage on different types of cell nuclei*. **Oral** au 11th Cancéropôle Grand-Ouest Workshop on Prediction and Modeling of response to Molecular and External Radiotherapies, Le Bono, France.

N. Tang, S. Meylan, F. Ballarini, I. Clairand, S. Incerti, C. Villagrasa, **Mai 2017**, *Early DNA damage in a CHO cell nucleus after proton irradiation*, **Poster** au 13th Symposium on Neutron and Ion Dosimetry, Cracovie, Pologne.

Prix :

N. Tang, **Novembre 2017**, Young Investigator Award, 17th International Symposium on Microdosimetry, Venise, Italie.

N. Tang, **Septembre 2017**, Travel Grant Award, 11th Cancéropôle Grand-Ouest Workshop on Prediction and Modeling of response to Molecular and External Radiotherapies, Le Bono, France.

N. Tang, **Mai 2017**, EURADOS support for conference fees, 13th Symposium on Neutron and Ion Dosimetry, Cracovie, Pologne.

Titre : Évaluation, à partir de modélisations nanodosimétriques, de l'influence de la compaction de la chromatine sur les effets radio-induits précoces et extension aux effets tardifs (réparation des dommages à l'ADN et mort cellulaire).

Résumé : Ce travail de thèse s'inscrit dans le cadre d'une recherche fondamentale visant à améliorer la compréhension des mécanismes d'interaction des rayonnements ionisants avec la matière biologique en s'intéressant à la prédiction par simulations numériques des dommages précoces radio-induits à l'ADN. Dans un premier temps, une étude sur le rôle des différents niveaux de compaction de la chromatine (hétérochromatine et euchromatine) dans l'induction de ces premiers effets, à savoir les cassures de brins de l'ADN, est proposée. De nouveaux modèles géométriques réalistes de noyaux cellulaires intégrant la compaction de la chromatine ont donc été créés et utilisés dans une chaîne de calcul, basée sur le code Monte-Carlo ouvert et généraliste Geant4 et son extension Geant4-DNA, permettant de simuler les étapes physique, physico-chimique et chimique menant aux cassures de brin. Les développements effectués dans cette thèse ont également permis d'étudier l'impact de plusieurs types de rayonnement (protons, alphas, photons) sur les dommages radio-induits. Les différents résultats ont été confrontés à des données expérimentales et en particulier à celles obtenues par l'équipe de radiobiologistes de l'IRSN. Enfin, une étude portant sur les effets plus tardifs comme la réparation de l'ADN et la mort cellulaire a été réalisée par l'utilisation conjointe de la chaîne de calcul et de certains modèles paramétriques issus de la littérature. Ainsi, les résultats obtenus dans cette thèse ont permis d'acquérir de nouvelles connaissances et de développer des outils de calcul qui seront bientôt disponibles en accès libre à la communauté scientifique afin de prédire des effets biologiques de plusieurs types de rayonnement dans la perspective d'améliorer les modèles de risque.

Mots-clés : Geant4/Geant4-DNA, hétérochromatine, euchromatine, dommages à l'ADN, réparation de l'ADN, survie cellulaire.

Title: Evaluation, from nanodosimetric modeling, of the influence of chromatin compaction on early radiation-induced effects and extension to late effects (DNA damage repair and cell death).

Abstract: This thesis work is part of a fundamental research aimed at improving the understanding of the mechanisms of interaction of ionizing radiation with biological matter by focusing on the prediction of early radiation-induced DNA damage by numerical simulations. As a first step, a study on the role of the different levels of chromatin compaction (heterochromatin and euchromatin) in the induction of these early effects, namely DNA strand breaks, is proposed. New realistic geometric models of cell nuclei integrating chromatin compaction have therefore been created and used in a calculation chain, based on the open source and general purpose Monte Carlo code Geant4 and its extension Geant4-DNA, to simulate the physical, physico-chemical and chemical stages leading to strand breaks. Developments in this thesis have also allowed studying the impact of several types of radiation (protons, alphas, photons) on radiation-induced damage. The various results were compared with experimental data and in particular those obtained by the IRSN team of radiobiologists. Finally, a study on later effects such as DNA repair and cell death was carried out using both the calculation chain and some parametric models from the literature. Thus, the results obtained in this thesis have made it possible to acquire new knowledge and to develop calculation tools that will soon be delivered in free access to the scientific community in order to predict the biological effects of several types of radiation with the aim of improving risk models.

Keywords: Geant4/Geant4-DNA, heterochromatin, euchromatin, DNA damage, DNA repair, cell survival.