

Bourses SFRP

La SFRP a attribué une bourse à ces jeunes étudiants pour leur stage de Master 2^e année de recherche. Nous avons le plaisir de publier dans cette rubrique destinée aux jeunes chercheurs un résumé de leur stage. Nous leur souhaitons de continuer brillamment leur carrière en souhaitant qu'ils restent attachés à la radioprotection.

Démarche ALARA : Optimisation de la dose pour l'imagerie dans un service de Radiothérapie « Dose versus qualité de l'image »

Stage réalisé au Centre d'oncologie et de radiothérapie de Tours du 1^{er} février au 31 juillet 2012. Mémoire soutenu le lundi 3 septembre 2012 dans le cadre de l'obtention du Master « Technologie de l'Imagerie Médicale » de la faculté de médecine de l'université François Rabelais de Tours.

Depuis de nombreuses années, l'imagerie a une place de plus en plus importante dans le domaine de la radiothérapie. Or, les différents imageurs utilisés (scanner de mise en place, imagerie embarquée) délivrent des doses non négligeables.

Aujourd'hui, de nombreux centres utilisent les protocoles préconisés par les constructeurs permettant d'obtenir des images de bonne qualité mais sans optimisation du point de vue dosimétrique.

Ce travail a présenté l'aspect technique d'une démarche ALARA d'optimisation de la dose pour l'imagerie dans le domaine de la radiothérapie. Différentes stratégies ont été utilisées. L'optimisation des constantes d'acquisitions, ainsi que des nouveaux paramétrages pour les différents imageurs ont permis un gain dosimétrique. En contrepartie, la diminution des doses d'imagerie a conduit à une dégradation de la qualité des images, mais en conservant les informations nécessaires et suffisantes à l'utilisation faite en radiothérapie.

L'utilisation de filtres numériques a permis une meilleure visualisation des images optimisées pour les différents opérateurs et utilisateurs.

Cette approche permettra par la suite de mettre en place un système de qualité pour la gestion des doses administrées aux patients, qu'il s'agisse de la dose dite « thérapeutique » ou de celle délivrée par l'imagerie de positionnement.

Olivier BLEUSE

Analyse des contrôles qualité du cyberknife et vérification de la dosimétrie patient

Projet soutenu le 6 septembre 2012 dans le cadre du Master Physique Médicale spécialité Radiophysique Médicale à l'université Paris-Sud XI.

Objectif : Connaissant les risques encourus par les patients subissant un traitement en radiothérapie, le Royal Marsden Hospital de Londres a décidé de vérifier les doses délivrées par le Cyberknife à l'aide de plusieurs dispositifs dosimétriques. Ceux-ci ont tous été utilisés dans le but de tester le Multiplan™ sur lequel sont basés les traitements.

Matériels et méthodes : Les caractéristiques (stabilité à court terme, fuites, polarité et recombinaison) de 3 chambres d'ionisation à air et d'une chambre liquide ont été étudiées. Des films Gafchromiques® EBT2 ainsi que des TLDs ont été étalonnés pour vérifier : les doses délivrées lors des *Automatic Quality Assurance (AQA)* et *End-to-End tests*, les doses périphériques reçues lors d'un traitement crânial ainsi que les doses reçues à proximité du PTV dans un traitement de prostate.

Principaux résultats : La chambre Farmer possède les facteurs correctifs les plus proches de 1. Cependant, son volume peut empêcher son utilisation pour le Cyberknife (en raison de la petite taille des faisceaux). Les petites chambres, plus appropriées, nécessitent plus de corrections. L'évaluation gamma 3 mm 3 % du AQA vaut 96,45 %. La concordance entre les doses des fichiers dicoms et des films radiochromiques est de 4,6 % pour le test synchrone, 27 % pour le XST Lung et en moyenne 0,4 % pour les autres. Les doses périphériques s'étendent de 0,27 % à 0,13 % de la dose prescrite (4.2 Gy) de 18 à 84 cm, respectivement, du bord du champ d'irradiation dont 0,02 % résulte des fuites de la machine. Les doses mesurées lors du traitement de la prostate diffèrent du Multiplan de 0,8 % pour la chambre d'ionisation disposée en dessous du volume cible, 1,75 % pour le film placé à proximité du PTV et un écart maximal de 50 cGy pour le film placé transversalement a été relevé.

Discussion : Le gamma du AQA pourrait être amélioré si une correction des résolutions avait été faite. Le XST Lung test possède la plus grande erreur de positionnement des faisceaux ce qui pourrait expliquer la différence constatée sur la dose moyenne délivrée. Les doses périphériques en surface obtenues ont été comparées avec le travail de Petti *et al.* (2006) qui avait étudié ces doses en profondeur et dont les résultats étaient supérieurs aux nôtres. L'hypothèse la plus évidente est la forme du rendement en profondeur des photons de 6MV : les doses en profondeur (2 cm) sont supérieures que celles en surface. Les doses calculées pour le traitement de la prostate sont en bon accord avec les prédictions du Multiplan, excepté pour le plan transversal qui doit être considéré comme une estimation et devrait être plus précise dans le cas d'un patient.

Conclusion : La plupart des résultats sont en accord avec les prédictions du Multiplan. Plus de temps aurait été nécessaire pour approfondir le cas de ceux dont les résultats diffèrent du Multiplan et cela pourrait être fait dans un prochain travail.

Marlène LABATTU

Origine cellulaire et altérations moléculaires dans la leucémogénèse de la forme agressive de leucémie lymphocytaire chronique (LLC)

Stage réalisé au CEA, IRCM, Laboratoire de Cancérologie Expérimentale (LCE, Sylvie Chevillard)

Les mécanismes cellulaires de résistance au stress génotoxique des cellules physiologiques restent encore une énigme biologique. Ces mécanismes peuvent converger vers la cancérogenèse et la résistance initiale pourrait être exacerbée permettant le maintien des cellules cancéreuses. La leucémie lymphoïde chronique est un exemple typique de l'hétérogénéité clinique et biologique car elle peut présenter une forme dite agressive et incurable dont les cellules sont résistantes *in vivo* et *in vitro* au stress génotoxique, tandis que la majeure fraction des patients présente une forme indolente et des cellules sensibles à ce même traitement. De ce point de vue, cette pathologie présente un modèle très opportun d'étude des mécanismes biologiques de résistance mis en jeu.

Le laboratoire d'accueil a établi une sous-population de cellules LLC complètement résistantes à l'apoptose radio-induite; cette population cellulaire dérive invariablement des malades résistants à la chimiothérapie. Ainsi, les mécanismes de la résistance, de l'évolution et du maintien de la forme agressive de la LLC diffèrent de ceux développés par la forme indolente. Cependant, l'origine cellulaire de la mise en place de ces mécanismes reste inconnue. Il a été montré récemment que même dans les tumeurs lymphoïdes à cellules matures (telles que la LLC), la transformation oncogénique a lieu dans les cellules immatures voire souches hématopoïétiques (CSH) et les aberrations chromosomiques sont suggérées apparaître comme des événements secondaires. Ces données changent radicalement l'appréhension de ce type de cancer hématologique pour lequel le dogme de la transformation maligne à l'état de la cellule différenciée vient de tomber. Dans ce nouveau contexte, deux hypothèses ont été émises au laboratoire à la fois pour une meilleure compréhension de la réponse cellulaire à l'irradiation et aussi pour contribuer à la compréhension nouvelle d'apparition de deux types de cellules LLC : résistantes ou sensibles à l'irradiation.

Selon la 1^{re} hypothèse l'étendue du dommage initial de la CSH, qui peut évoluer ou non dans les cellules progénitrices précoces, définira par la suite la forme agressive ou la forme indolente. En conséquence, ces cellules isolées chez les patients LLC et injectées chez la souris NSG (NOD/SCID/IL2r γ null) vont évoluer vers le phénotype agressif ou indolent de la LLC. Si cette hypothèse s'avère être fautive, la 2^e hypothèse, qui nécessite, au préalable de deux formes de la LLC, le passage obligatoire par une étape pré-leucémique de lymphocytose monoclonale B (MBL), sera testée. Dans ce cas le dommage initial est le même dans les CSH/cellules progénitrices précoces et évoluera dans un 2^e temps au cours de la différenciation. Pour les validations, les cellules triées vont être irradiées avant l'injection. Pour valider cette 2^e hypothèse, les souris greffées vont être soumises aux irradiations aiguës et à faibles doses chroniques (0,011 mGy/min).

Le travail du stage M2 a porté sur la caractérisation de la cellule qui présente un défaut de réparation de l'ADN et du maintien de la stabilité du génome à l'origine de la forme agressive de la maladie et sur la mise en place de la résistance au traitement.

BOURSES SFRP

Dans ce cadre, j'ai pu démontrer la faisabilité de ce projet en mettant en évidence la présence des cellules immatures circulantes exprimant les marqueurs membranaires des cellules progénitrices et cellules souches hématopoïétiques dans les deux sous-populations de cellules leucémiques (résistantes et sensibles). Cette faisabilité est aussi démontrée sur les prélèvements sanguins frais et ceux congelés dans l'azote liquide, ce qui est très important pour pouvoir réaliser les études rétrospectives surtout pour des échantillons résistants.

Effectivement, l'étude sur 31 échantillons nous a indiqué l'existence de cellules circulantes exprimant les marqueurs membranaires des cellules souches/progénitrices hématopoïétiques dans deux sous-groupes des échantillons LLC. Cette étude suggère aussi que ces sous-populations cellulaires immatures sont plus importantes dans les échantillons LLC résistants au stress. Aussi, les tests de différenciation *in vitro* ont été validés ; ceci nous permet d'envisager les xénogreffes des souris NSG pour finaliser l'étude.

Les espèces réactives de l'oxygène (ROS) sont produites par le métabolisme de l'oxygène dans la cellule et leur taux peut être critique car elles interagissent et modifient les principaux constituants cellulaires tels que les lipides, protéines et notamment, l'ADN. Ainsi, elles peuvent contribuer au développement et/ou maintien de certains cancers, maladies cardiovasculaires ou au vieillissement. Les cellules cancéreuses ont développé des stratégies de résistance aux attaques radicalaires des ROS et présentent en conséquence une diminution du taux de ROS intracellulaires. Aussi, il a été rapporté récemment, que les cellules souches hématopoïétiques et les cellules précoces progénitrices contiennent, comme les cellules cancéreuses, moins de ROS par rapport à leurs dérivés différenciés. Ainsi, une des hypothèses du travail était la possibilité que le taux de ROS pourrait être un des marqueurs discriminant entre les cellules immatures leucémiques des échantillons cellulaires LLC résistants *vs* sensibles. Pour répondre à cette question, j'ai adapté les méthodes de la littérature pour mesurer par cytométrie le taux de ROS dans les cellules lymphoïdes en définissant les points critiques en particulier le temps et la dose optimums sur la glace pour l'incubation des cellules avec la sonde (2'-7'-dichlorofluorescein diacetate, DCF-DA) (10 min et 10 μ M, respectivement. Pour valider ces conditions expérimentales, il nous a été possible de mesurer les variations du taux de ROS entre deux lignées lymphoïdes (qui diffèrent en statut du gène *TP53*).

En conclusion, le travail que j'ai réalisé durant mon stage de M2, aussi bien concernant les mises au point pour analyser les cellules souches leucémiques que la mesure du taux de ROS intracellulaire constituent les bases nécessaires pour caractérisation moléculaire des sous-populations de cellules immatures et la caractérisation de la radiosensibilité des cellules souches/différenciées des deux sous-groupes de la LLC.

Bacha NOUR