

**République Algérienne Démocratique et Populaire**  
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

**Université Abou Bekr Belkaid de Tlemcen**

Faculté des Sciences - Département de Physique

Faculté de Médecine - Département de Médecine



**MÉMOIRE DE FIN D'ÉTUDES**

Présenté par :

MAALEM AMINA

BOUNAB NADJIMA

Pour l'obtention du diplôme de **Master en Physique Médicale**

**Contribution de la Dosimétrie dans l'Analyse Cytogénétique des  
Aberrations Radio-induites, par une Dose de 1,5 et 5 Gy de  
Rayonnements Gamma**

**Soutenu le 13 Octobre 2016, devant le jury :**

**Président :** Pr. LASRI Boumediene

Faculté des Sciences, Saida

**Examineur :** Pr. BERBER Necib

Faculté de Médecine, Tlemcen

**Examineur :** Dr. DERRAGUI Chahida

Faculté de Médecine, Tlemcen

**Encadreur :** Pr. BABA AHMED Abderrazak

Faculté de Médecine, Tlemcen

**Co-Encadreur :** Dr MESSAL Ahlem Nora

Faculté des SNV- USTO, Oran

**Année Universitaire : 2015/2016**

## **Remerciement**

*A notre encadreur de thèse,*

*Monsieur le professeur **A. BABA AHMED**, Chef département de pharmacie. Nous vous remercions d'avoir été à l'initiative de ce travail. Vous nous avez guidés dans l'élaboration de cette thèse par votre grande disponibilité, vos conseils et votre précieuse aide. Merci de nous avoir fait partager vos connaissances, nous avons été heureux de travailler avec vous et nous tenons à vous en remercier sincèrement.*

*A nos membres de jury,*

*Monsieur le professeur **N. BERBER***

*Professeur en médecine nucléaire, Chef de service de médecine Nucléaire, CHU Tlemcen, Doyen de la faculté de médecine. Nous vous remercions de nous faire l'honneur d'avoir accepté d'examiner ce travail, On vous exprime notre profonde reconnaissance.*

*Madame **A. MESSAL** Maître de conférence A à l'Université des Sciences et de la Technologie d'Oran, nous vous remercions tout particulièrement pour votre sympathie et de nous avoir accueillie au sein de votre laboratoire de recherche, ainsi que pour la pertinence de vos observations qui ont éclairé cette étude.*

*Monsieur **B. LASRI** Professeur à l'Université Dr Tahar Moulay de Saïda, Que vous trouviez ici l'expression de nos sincères remerciements de présider le jury de cette thèse, on vous exprime notre profonde gratitude.*

*A, Madame C. **DERRAGUI** maître assistante au service de médecine nucléaire CHU Tlemcen, Qui nous a fait l'honneur de d'examiner notre travail.*

*On désire aussi remercier Monsieur **M. BENMOUNA** Professeur à l'Université Abou Bekr Belkaid, facultés des Sciences, qui a veillé à la réussite de ce Master.*

*On tient à exprimer nos sincères remerciements à **Dr SM. MEGHELLI** et **Dr A. MEDJAHDI** qui nous ont enseigné et qui par leurs compétences nous ont soutenu dans la poursuite de nos études*

*Enfin, on remercie tous ceux qui, de près ou de loin, ont contribué à la réalisation de ce travail.*

*A nos parents ;*  
*A nos chers maris ;*  
*A nos enfants ;*  
*A toute notre la famille ;*  
*A tous ceux qui sont chères pour nous ;*  
*On leur dédie ce travail.*

## **Remerciement**

*A notre encadreur de thèse,*

*Monsieur le professeur **A. BABA AHMED**, Chef département de pharmacie. Nous vous remercions d'avoir été à l'initiative de ce travail. Vous nous avez guidés dans l'élaboration de cette thèse par votre grande disponibilité, vos conseils et votre précieuse aide. Merci de nous avoir fait partager vos connaissances, nous avons été heureux de travailler avec vous et nous tenons à vous en remercier sincèrement.*

*A nos membres de jury,*

*Monsieur le professeur **N. BERBER***

*Professeur en médecine nucléaire, Chef de service de médecine Nucléaire, CHU Tlemcen, Doyen de la faculté de médecine. Nous vous remercions de nous faire l'honneur d'avoir accepté d'examiner ce travail, On vous exprime notre profonde reconnaissance.*

*Madame **A. MESSAL** Maître de conférence A à l'Université des Sciences et de la Technologie d'Oran, nous vous remercions tout particulièrement pour votre sympathie et de nous avoir accueillie au sein de votre laboratoire de recherche, ainsi que pour la pertinence de vos observation qui ont éclairé cette étude.*

*Monsieur **B. LASRI** Professeur à l'Université Dr Tahar Moulay de Saïda, Que vous trouviez ici l'expression de nos sincères remerciements de présider le jury de cette thèse, on vous exprime notre profonde gratitude.*

*A, Madame **C. DERRAGUI** maitre assistante au service de médecine nucléaire CHU Tlemcen, Qui nous a fait l'honneur de d'examiner notre travail.*

*On désire aussi remercier Monsieur **M. BENMOUNA** Professeur à l'Université Abou Bekr Belkaid, facultés des Sciences, qui a veillé à la réussite de ce Master.*

*On tient à exprimer nos sincères remerciements à **Dr SM. MEGHELLI** et **Dr A. MEDJAHDI** qui nous ont enseigné et qui par leurs compétences nous ont soutenu dans la poursuite de nos études*

*Enfin, on remercie tous ceux qui, de près ou de loin, ont contribué à la réalisation de ce travail.*

*A nos parents ;*  
*A nos chers maris ;*  
*A nos enfants ;*  
*A toute notre la famille ;*  
*A tous ceux qui sont chères pour nous ;*  
*On leur dédie ce travail.*

## LISTE DES FIGURES

<b>Figure 1 :</b>	Classification des rayonnements.....	02
<b>Figure 2 :</b>	Parcours du rayonnement $\alpha$ .....	03
<b>Figure 3 :</b>	Parcours du rayonnement $\beta$ .....	04
<b>Figure 4 :</b>	Parcours et portée d'un faisceau d'électrons.....	04
<b>Figure 5 :</b>	Parcours du neutron.....	05
<b>Figure 6 :</b>	Spectre électromagnétique.....	06
<b>Figure 7 :</b>	Parcours du rayonnement $\gamma$ .....	06
<b>Figure 8 :</b>	Schéma de désintégration du Cobalt 60.....	07
<b>Figure 9 :</b>	Principe du fonctionnement d'un tube à rayons X.....	08
<b>Figure 10:</b>	Rayonnement de freinage.....	08
<b>Figure 11 :</b>	Rayonnement de fluorescence.....	09
<b>Figure 12 :</b>	Effet photoélectrique.....	12
<b>Figure 13 :</b>	Effet Compton.....	13
<b>Figure 14 :</b>	Effet de production de paires.....	13
<b>Figure 15:</b>	fluence radiative.....	15
<b>Figure 16 :</b>	Angle solide d'un objet vu d'un point.....	16
<b>Figure 17 :</b>	Facteurs de qualité et effets spécifiques des RI.....	19
<b>Figure 18:</b>	Cellule animale vue en trois dimensions.....	21
<b>Figure 19 :</b>	Différents niveaux de condensation de la chromatine.....	22
<b>Figure 20 :</b>	Structure hélicoïdale de l'ADN.....	23
<b>Figure 21 :</b>	Différentes étapes de la mitose.....	25
<b>Figure 22 :</b>	Chronologie des évènements lors d'une interaction des RI avec la matière.....	26
<b>Figure 23 :</b>	Caractéristiques d'ionisation des rayonnements à faible TLE et à TLE élevé (A) et lésions de l'ADN radio-induites (B).....	29
<b>Figure 24 :</b>	Représentation schématique des voies de réparation des cassures simples et doubles brins.....	30
<b>Figure 25 :</b>	Différents types des remaniements chromosomiques.....	31
<b>Figure 26 :</b>	Chromosome dicentrique accompagné de son fragment acentrique (coloration au Giemsa).....	33
<b>Figure 27:</b>	Étalement métaphasique, en coloration au Giemsa, montrant deux anneaux, un chromosome dicentrique et des fragments acentriques.....	33
<b>Figure 28 :</b>	Cellule rogue observée parmi 500 cellules normales en métaphase.....	34

<b>Figure 29 :</b>	Étalement en métaphase illustrant la « peinture » chromosomique par FISH, utilisée pour détecter les translocations.....	35
<b>Figure 30 :</b>	Etalement de cellules humaines en métaphase comportant une insertion. En jaune : la paire de chromosomes 1 et tous les autres chromosomes sont contre-colorés à l'iodure de propidium.....	35
<b>Figure 31 :</b>	Étalement en métaphase sur lequel apparaissent des chromatides cassées (b) et des trous (g).....	36
<b>Figure 32 :</b>	Étalement métaphasique sur lequel apparaît un échange chromatidique symétrique.....	37
<b>Figure 33 :</b>	Effets au niveau de la cellule irradiée.....	38
<b>Figure 34 :</b>	Courbe de survie exponentielle.....	40
<b>Figure 35 :</b>	Courbe de survie avec épaulement.....	41
<b>Figure 36 :</b>	Modèle de réparation cellulaire.....	42
<b>Figure 37 :</b>	Relation entre le taux de chromosomes dicentriques produits dans des lymphocytes humains et la dose absorbée.....	44
<b>Figure 38 :</b>	Condensation prématurée des chromosomes induite par la fusion d'un lymphocyte humain non irradié et d'une cellule CHO en mitose à l'aide de PEG.....	46
<b>Figure 39 :</b>	Mécanisme de formation des micronoyaux et des ponts nucléoplasmiques lors d'une analyse des micronoyaux par blocage de la cytokinèse.....	48
<b>Figure 40 :</b>	(a) Cellule binucléée sans micronoyaux et comportant un ou deux micronoyaux. (b) Cellule binucléée comportant un ou deux ponts nucléoplasmiques. Dans, chaque cas, celui-ci est accompagné d'un micronoyau.....	48
<b>Figure 41 :</b>	Irradiateur de rayons $\gamma$ (CIS, Bio-international).....	51
<b>Figure 42 :</b>	Flacons T25 classique.....	51
<b>Figure 43 :</b>	Microscope optique (Laboratoire GMA, Oran).....	52
<b>Figure 44 :</b>	Lame analysée irradié à une dose de 1,5 Gy.....	52
<b>Figure 45 :</b>	Schéma du marquage de la chromatine par l'ajout du BrdU.....	54
<b>Figure 46 :</b>	Métaphase d'une culture cellulaire provenant de la 2 <sup>ème</sup> division cellulaire, (laboratoire GMA, USTO).....	59
<b>Figure 47 :</b>	Métaphase faite sur un prélèvement irradié à une dose de 1,5 Gy de rayonnements $\gamma$ , montrant un chromosome dicentrique et son fragment acentrique (laboratoire GMA, USTO).....	60

<b>Figure 48 :</b>	Métaphase faite sur un prélèvement irradié à une dose de 1,5 Gy de rayonnements $\gamma$ , montrant un chromosome en anneaux provenant de la première division cellulaire (laboratoire GMA, USTO).....	61
<b>Figure 49 :</b>	Métaphase faite sur un prélèvement irradié par une dose de 1,5 Gy de rayonnements $\gamma$ , montrant un chromosome transloqué issue de la 1 <sup>ière</sup> division cellulaire (laboratoire GMA, USTO).....	61
<b>Figure 50 :</b>	Métaphase faite sur un prélèvement irradié par une dose de 1,5 Gy de rayonnements $\gamma$ , montrant un break chromatidique et un break chromosomique issue de la première division cellulaire (laboratoire GMA, USTO).....	62
<b>Figure 51 :</b>	Métaphase faite sur un prélèvement irradié à une dose de 1,5 Gy de rayonnements $\gamma$ , montrant un Gap issue de la 1 <sup>ière</sup> division cellulaire (laboratoire GMA, USTO).....	62
<b>Figure 52 :</b>	Métaphase d'une culture cellulaire du sang périphérique, exposée à 5 Gy des rayonnements $\gamma$ , montrant les différentes aberrations de type instable tel que les dicentriques (laboratoire GMA, USTO).....	63
<b>Figure 53 :</b>	Métaphase d'une culture cellulaire du sang périphérique, exposée à 5 Gy des rayonnements $\gamma$ , montrant des aberrations de type instable (laboratoire GMA, USTO).....	63
<b>Figure 54 :</b>	Métaphase d'une culture cellulaire du sang périphérique, exposée à 5 Gy des rayonnements $\gamma$ , présentant une translocation (laboratoire GMA, USTO).....	64
<b>Figure 55 :</b>	Métaphase d'une culture cellulaire du sang périphérique, exposée à 5 Gy des rayonnements $\gamma$ , dont nous apercevons un chromosome en anneau et des chromosomes acentriques (laboratoire GMA, USTO).....	64
<b>Figure 56 :</b>	Métaphase d'une culture cellulaire du sang périphérique, suite à une exposition de rayonnements $\gamma$ de 5 Gy, montrant un chromosome portant une délétion chromatidique (laboratoire GMA, USTO).....	65
<b>Figure 57 :</b>	Métaphase d'une culture cellulaire du sang périphérique, suite à une exposition aux rayonnements $\gamma$ de 5 Gy, montrant une anomalie de structure de type Gap (laboratoire GMA, USTO).....	65
<b>Figure 58 :</b>	Aberrations chromosomiques en fonction de la dose d'irradiation .....	67
<b>Figure 59 :</b>	Distribution des dicentriques dans 60 cellules analysées .....	68
<b>Figure 60 :</b>	Distribution des dicentriques dans 50 cellules analysées .....	68



## LISTE DES TABLEAUX

<b>Tableau : 1</b>	Facteur de pondération radiologique.....	18
<b>Tableau : 2</b>	Valeurs des facteurs de pondération tissulaire.....	18
<b>Tableau : 3</b>	Résultats de la distribution de toutes les aberrations chromosomiques par cellule pour les différentes doses étudiées.....	66
<b>Tableau : 4</b>	Distribution des chromosomes dicentriques dans les 110 cellules analysées.....	68
<b>Tableau : 5</b>	Effets cytogénétiques des rayons $\gamma$ (L'ensemble des polycentriques) observés dans plusieurs métaphases et à différentes doses.....	70
<b>Tableau : 6</b>	Fréquence des dicentriques retrouvés à une dose de 1,5 Gy comparés à celle des quatre laboratoires de référence.....	70
<b>Tableau : 7</b>	Comparaison des fréquences des chromosomes dicentriques chez des sujets algérien et espagnol.....	71

## LISTE DES ABREVIATIONS

**<sup>137</sup>Ba:** baryum

**<sup>137</sup>Cs:** Cesium Cs 137

**<sub>2</sub><sup>4</sup>He:** Atome helium

**<sup>60</sup>Co:** Cobalt 60

**ADN:** Acide Désoxy Ribonucléique

**AIEA:** l'agence internationale d'énergie atomique

**ARN:** acide ribonucléique

**BER :** Réparation par excision de bases

**BrdU:** 5-bromo-29-deoxyuridine

**CBMN:** analyse des micronoyaux par blocage de la cytokinèse

**CDB :** cassures doubles brin

**CHO:** cellule ovarienne de hamster chinois

**CSB :** cassures simples brin

**D :** Dose absorbée

**D°:** Débit de dose absorbée

**DAPI :** DiAmidino-4,6 Phényl-2 Indole

**DI:** Index de dispersion

**Dic:** Chromosomes dicentriques

**E:** Dose efficace

**EBR:** Efficacité biologique relative

**FISH:** hybridation fluorescente in situ

**FPG:** Coloration par fluorescence plus Giemsa

**GMA** : Génétique Moléculaire Appliquée

**Gy**: Gray

**H**: Dose équivalente

**HR**: Recombinaison Homologue

**HR**: Recombinaison Homologue

**IR** : InfraRouge

**K<sub>air</sub>** : Kerma

**KCl** : Chlorure de Potassium

**KeV** : kilo electron Volte

**MeV**: Mega electron Volte

**M-FISH** : Technique Multifluorochrome

**MN** : MicroNoyaux

**MO**: Microscope Optique

**NHEJ**: Relégations non homologue

**OEM**: Ondes ElectroMagnétiques

**PCC** : Condensation Prématurée des Chromosomes

**PEG** : PolyEthylène Glycol

**Ph**: Potentiel d'hydrogène

**PHA**: PhytoHémAgglutinine

**RA**: Radioactifs

**RI**: Rayonnements Ionisants

**RX**: Rayon X

**R $\alpha$**  : Rayon alpha

**R $\beta$**  : Rayon bêta

**R $\gamma$** : Rayon gamma

**SE**: Standard Error

**SI**: Système International des Unités

**SSBR**: Réparation des cassures simple brin

**Sv**: Sievert

**SVF**: Sérum de Veau Fœtal

**TEL**: Transfert d'Energie Linéique

**U**: Popworth

**UV**: UltraViolet

**Var (X)**: Variance

## RÉSUMÉ

La dosimétrie biologique est une discipline qui permet de déterminer la dose d'irradiation ionisante reçue par un individu (naturelle, accidentelle, professionnelle) à partir de paramètres biologiques. Elle repose sur l'analyse des chromosomes dicentriques, qui sont considérés comme de véritables bio-indicateurs, car ils sont très rares à l'état naturel.

Notre étude a pour objectif, l'identification des aberrations chromosomiques dites radio-induites par l'analyse des étalements des échantillons lymphocytaires au niveau du laboratoire de Génétique Moléculaire Appliquée (GMA, Oran).

Les résultats obtenus ont été interprétés à l'aide d'outils statistiques qui ont servi par la suite à confirmer les données requises.

L'analyse a porté sur 120 lames, sur lesquelles la recherche et le décompte a concerné plus de 400 métaphases. Parmi elles, 60 lames ont été irradiées pour une dose de 1,5 Gy, 50 lames pour une dose de 5 Gy et enfin 10 lames n'ont subies aucune irradiation (0 Gy).

À partir des résultats statistiques obtenus, nous avons procédé à une série de comparaison avec d'autres travaux réalisés par différents auteurs, qui montrent également que la fréquence des dicentriques augmente considérablement avec la dose d'irradiation reçue en se référant à la valeur de U Popworth, dont le but est de vérifier l'homogénéité de l'irradiation au niveau des échantillons.

L'évaluation d'une éventuelle dose d'irradiation se fait dans le cadre de la prise en charge des personnes irradiées, raison pour laquelle il est recommandé dans la mesure du possible de mettre en place un laboratoire de dosimétrie biologique dans chaque pays.

## SOMMAIRE

CHAPITRE I : Physique des rayonnements ionisants.....	01
I. INTRODUCTION.....	01
II. NATURE ET ORIGINE DES RAYONNEMENTS IONISANTS.....	02
II.1. Classification des rayonnements.....	02
II.1.1. Rayonnement non ionisant .....	02
II.1.2. Rayonnement ionisant.....	02
III. RADIOACTIVITÉ.....	10
III.1. Désintégration $\alpha$ .....	10
III.2. Désintégration $\beta$ .....	10
III.3. Désexcitation $\gamma$ .....	11
IV. INTERACTION DES RAYONNEMENTS ÉLECTROMAGNÉTIQUES AVEC LA MATIÈRE.....	12
IV.1. Effet photoélectrique.....	12
IV.2. Effet Compton.....	12
IV.3. Effet de production de paires.....	13
IV.4. Transfert d'énergie linéique (TEL).....	13
IV.5. Efficacité biologique relative (EBR).....	14
V. NOTIONS DE DOSIMÉTRIE BIOLOGIQUE.....	15
V.1 Grandeurs radiométriques .....	15
V.2. Grandeurs dosimétriques .....	17
VI. ORDRES DE GRANDEURS ET VARIÉTÉS DES EXPOSITIONS.....	20
VI.1 Modes de contaminations par les irradiations.....	20
VI.1.1. L'exposition externe.....	20
VI.1.2. La contamination radioactive.....	20
VI.2. Expositions naturelles.....	20
VI.3. Expositions médicales.....	20
VI.4 Expositions professionnelles.....	20

CHAPITRE II :Radiobiologie.....	21
I.  BIOLOGIE CELLULAIRE .....	21
I.1. La cellule.....	21
I.2. Noyau cellulaire .....	21
I.3. Chromosome .....	21
I.4. Acide Désoxyribonucléique (ADN).....	22
I.5. Le gène .....	23
II.  CYCLE CELLULAIRE .....	24
II.1. Interphase .....	24
II.2. Phase mitotique : La mitose .....	24
III.  INTERACTIONS DES RAYONNEMENTS IONISANTS AVEC LA MATIÈRE.....	26
III.1. Effets physico-chimiques .....	26
III.2. Lésions des constituants cellulaires .....	27
IV.  ABERRATIONS CHROMOSOMIQUES.....	31
IV.1. Classification des remaniements chromosomiques .....	31
IV.2. Aberrations instables.....	32
IV.3 Aberrations stables.....	34
IV.4. Aberrations chromatidiques.....	36
V.  EFFETS AU NIVEAU DE LA CELLULE IRRADIÉE .....	38
V.1. Mort cellulaire, apoptose radio-induite .....	38
V.2. Altérations des fonctions cellulaires .....	39
VI.  CONSÉQUENCE D'UNE IRRADIATION SUR UNE POPULATION CELLULAIRE.....	40
VI.1. Courbes de survie cellulaire.....	40
VII.  APPLICATION DE LA DOSIMÉTRIE BIOLOGIQUE.....	43
VII.1. Dosimétrie cytogénétique.....	43
VII.2. Dosimétrie moléculaire.....	43
VII.3. Relation « dose-effet ».....	43

VIII.	TECHNIQUES DU CARYOTYPE .....	45
	VIII.1. Hybridation fluorescente in situ .....	45
	VIII.2. Condensation Prématurée des Chromosomes (PCC).....	46
	VIII.3. Micronoyaux.....	47
CHAPITRE III : Matériels et Méthodes.....		50
I.	INTRODUCTION.....	50
II.	OBJECTIFS.....	50
III.	MATÉRIELS.....	51
	III.1. Appareil d'irradiation.....	51
	III.2. Flacon de culture servant à l'irradiation.....	51
	III.3. Microscope optique.....	52
	III.4. Lames analysées.....	52
IV.	MÉTHODES.....	53
	IV.1. Prélèvement sanguin .....	53
	IV.2. L'irradiation.....	53
	IV.3. Etape de culture cellulaire.....	53
	IV.4. L'ajout du Bromodésoxyuridine.....	54
	IV.5. Coloration classique au Giemsa.....	55
	IV.6. Analyse cytogénétique.....	55
	IV.7. Critères d'analyses des préparations chromosomiques.....	55
V.	TYPE DE L'ÉTUDE.....	55
VI.	TAILLE DE L'ÉCHANTILLON.....	56
VII.	ANALYSE STATISTIQUE.....	56
	VII.1. Distribution de Poisson et conditions d'application.....	56



CHAPITRE IV : Résultats et Discussion.....	59
I.    RÉSULTATS.....	59
I.1. Résultats des aberrations de la deuxième division cellulaire.....	59
I.2 Analyse statistique .....	67
II.   DISCUSSION.....	69
CHAPITRE V : CONCLUSION ET PERSPECTIVES.....	74
RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES.....	77

### I. INTRODUCTION

Les rayonnements ionisants (RI) peuvent endommager les cellules et de leur contenu tel que l'acide désoxyribonucléique (ADN), ainsi des mécanismes de réparations extrêmement efficaces sont donc activés afin de réparer les lésions occasionnées au niveau moléculaire mais, un certain nombre d'erreurs peut être généré lors de ces processus. Parmi ces erreurs qui peuvent être observées lorsque les chromosomes sont condensés durant la phase de mitose du cycle cellulaire.

Cependant, les aberrations peuvent résulter de la cassure non réparée d'un chromosome (fragment, délétion), d'une réparation incomplète du chromosome sur lui-même (inversion, anneau centrique), ou d'un échange de matériel génétique entre plusieurs chromosomes (translocation, dicentriques).

Classiquement, deux groupes d'aberration sont à distinguer, les aberrations dites «instables », telles que les dicentriques, les anneaux centriques et les fragments, diminuent au cours des divisions cellulaires du fait de leur nature qui ne permet pas à la cellule d'accéder à la deuxième division cellulaire<sup>[1]</sup>.

Les aberrations dites «stables», telles que les translocations, les insertions ou les inversions, ont un aspect qui leurs permet de se séparer de façon correcte lors de la mitose. La stabilité de ces aberrations reste toujours sujette à controverse<sup>[1]</sup>.

Les aberrations chromosomiques sont un des outils utilisé en dosimétrie biologique, en effet, pour estimer les doses reçues lors d'une exposition accidentelle récente, les dicentriques et anneaux centrique sont analysés et quantifiés dans les métaphases issues des lymphocytes circulants<sup>[2]</sup>.

La reconnaissance et le dénombrement des aberrations chromosomiques, au sein des lymphocytes du sang périphérique, est la technique de référence imposée par l'agence internationale d'énergie atomique (AIEA)<sup>[3]</sup>. Cette technique conventionnelle de cytogénétique semble être la plus sensible et la plus spécifique pour estimer une dose en cas de suspicion d'irradiation.

Ces dernières années ont apporté de grandes améliorations aux techniques de cytogénétique, permettant une meilleure observation des anomalies chromosomiques radio-induites, en particulier les dicentriques. L'analyse de ces derniers, est devenue une référence retenue par un grand nombre de laboratoires de dosimétrie biologique<sup>[4]</sup>.

## II. NATURE ET ORIGINE DES RAYONNEMENTS IONISANTS

Les rayonnements ionisants (RI) sont, des rayonnements dotés d'une énergie suffisante pour éjecter un électron de l'orbite électronique d'un atome, ils sont de nature électromagnétique ou corpusculaire de masse non nulle<sup>[5]</sup>.

### II.1. Classification des rayonnements

Les rayonnements pourront être classés comme en fonction de leur nature et de leur énergie (Figure 1).

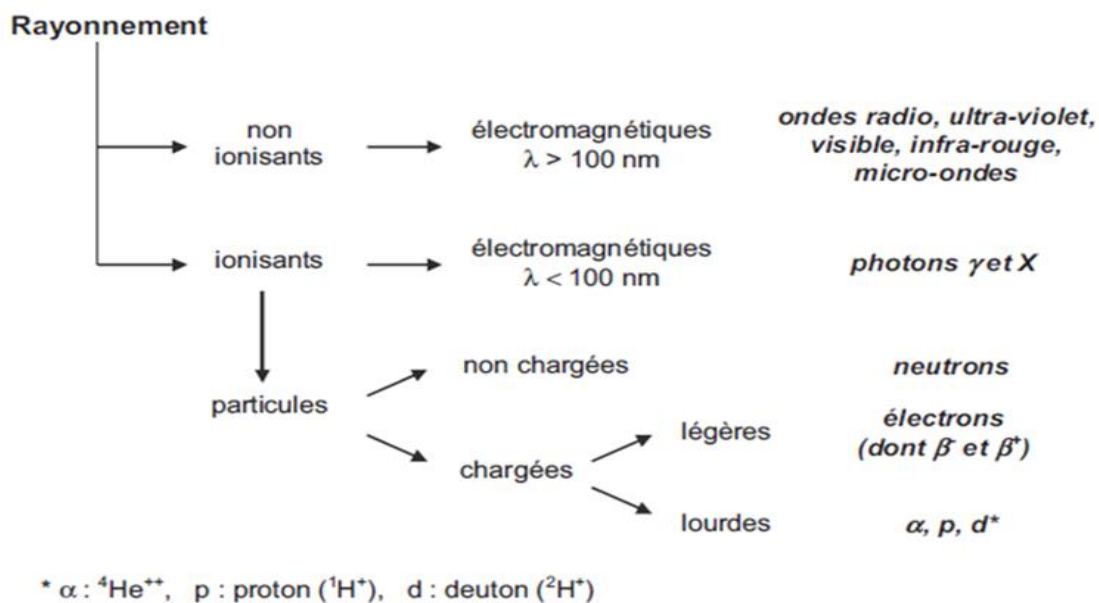


Figure 1 : Classification des rayonnements<sup>[5]</sup>.

#### II.1.1. Rayonnement non ionisant

C'est un rayonnement qui possède une énergie insuffisante pour ioniser la matière, il est constitué essentiellement de rayonnements électromagnétiques (REM), tel que les ondes radio, ultraviolet, visible, infrarouge, et les micro-ondes<sup>[5]</sup> (Figure 1).

#### II.1.2. Rayonnement ionisant

C'est un rayonnement qui est susceptible d'arracher des électrons à la matière, c'est un transport d'énergie sous la forme de particules ou d'ondes électromagnétiques (OEM), exemple : rayonnements X et  $\gamma$ <sup>[5]</sup> (figure 1).

### II.1.2.1. Rayonnements particuliers

Ont une masse au repos ( $e^-$ ,  $\alpha$ ). L'énergie totale de ces particules est donnée par la relation d'Einstein<sup>[6]</sup> :

$$E = m.c^2$$

#### II.1.2.1.1. Rayonnements $\alpha$

Les rayonnements  $\alpha$  sont des particules d'hélium ( ${}^4_2\text{He}$ ) éjectés par des atomes instables, (**Figure 2**). Il s'agit d'une particule radioactive, qui constituées de 2 protons et 2 neutrons de charge électrique positive, ils sont directement ionisants et caractérisent par :

- faible pénétration ;
- parcourt quelques centimètres dans l'air ;
- arrêté par la couche cornée de la peau ou une feuille de papier<sup>[7,8]</sup>.

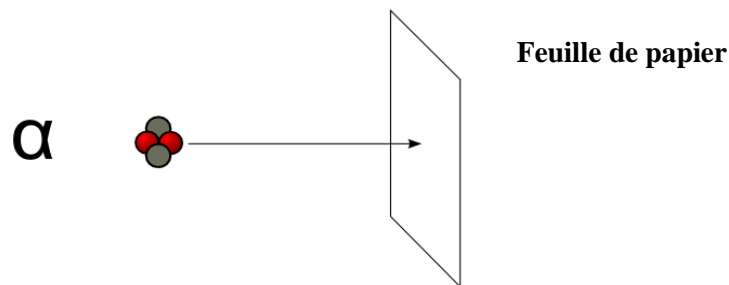


Figure2 : Parcours du rayonnement  $\alpha$ <sup>[8]</sup>.

#### II.1.2.1.2. Rayonnements $\beta$

Correspond à l'émission par un noyau radioactive d'un électron avec une charge négative ( $\beta^-$ ) ou d'un positron avec une charge électrique positive (positons  $\beta^+$ ), et sont directement ionisants (**Figure 3**).

Les rayonnements  $\beta$  sont caractérisés par leur pénétration limitée, parcours qui ne dépasse pas quelques mètres dans l'air ; ils sont arrêté par une feuille d'aluminium ou par des matériaux de faible poids atomique tel que le plexiglas, cependant les rayonnements  $\beta$  ne pénètrent pas en profondeur dans l'organisme quand il s'agit d'une source située dans son environnement extérieur<sup>[7,8]</sup>.

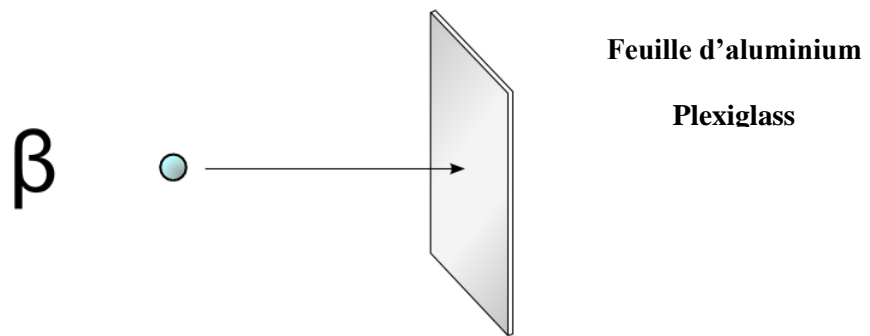


Figure 3 : Parcours du rayonnement  $\beta$ <sup>[8]</sup>.

### II.1.2.1.3. Électrons

Les électrons sont des particules légères porteuses d'une charge électrique élémentaire, négative pour les négatons et positive pour les positons. Les électrons sont en mouvement dans un milieu matériel perdent leur énergie cinétique au cours d'interactions avec les atomes du milieu traversé (**Figure 4**). Deux cas de figure peuvent se présenter : les électrons agissent soit avec les électrons des atomes constituant le milieu, soit avec leur noyau<sup>[6]</sup>.

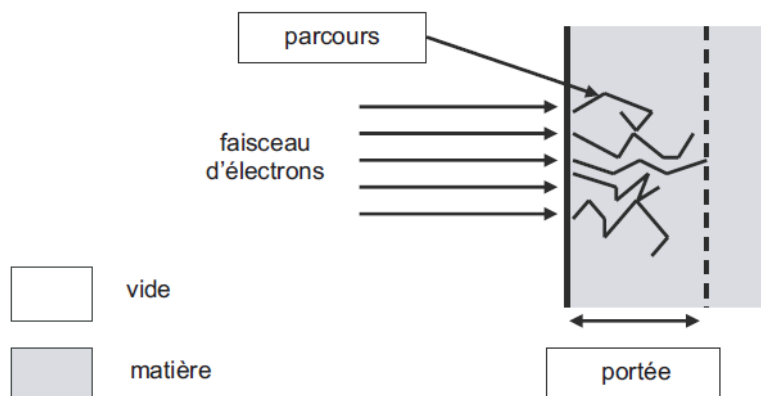


Figure4 : Parcours et portée d'un faisceau d'électrons<sup>[6]</sup>.

### II.1.2.1.4. Neutrons

Les neutrons ont une masse presque identique à celle du proton et ne portent pas de charge électrique. Ils sont émis lors des phénomènes de désintégration nucléaire, avec des énergies variables de quelques MeV à quelques dizaines de MeV. Une source usuelle de neutrons est le californium-252 dont la fission spontanée émet quatre neutrons d'énergie moyenne de 2,2 MeV<sup>[5]</sup> (**Figure 5**).

Les neutrons sont :

- indirectement ionisant ;
- pénétration importante ;
- parcourt quelques centaines de mètres dans l'air ;
- traverse les vêtements et le corps ;
- arrêté par des écrans de paraffine<sup>[7]</sup>.

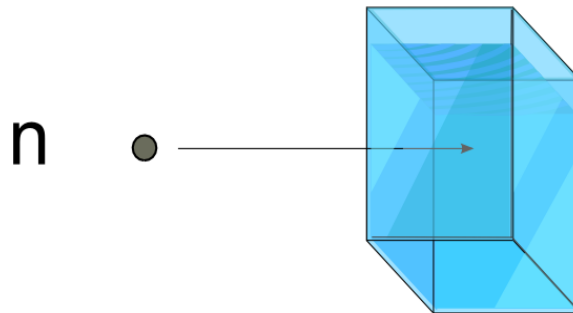


Figure 5 : Parcours du neutron<sup>[8]</sup>.

### II.1.2.2. Rayonnements électromagnétiques

Constitués par un flux de photons X et  $\gamma$  et donc n'ont pas de masse. Sont considérés comme une énergie qui se déplace qui est donnée par la relation suivante<sup>[5]</sup> :

$$E = h \cdot \nu = h \frac{c}{\lambda}$$

De même nature physique, les rayonnements  $\gamma$  et X ne se différencient que par leur origine, les rayons  $\gamma$  ont une origine nucléaire tandis que les rayons X proviennent du cortège d'électrons<sup>[9]</sup>.

#### II.1.2.2.1. Spectre électromagnétique

Le spectre électromagnétique est la décomposition du REM selon ses différentes composantes tel que la fréquence, l'énergie, la longueur d'onde. Seule une petite portion du spectre est visible par l'œil humain. Les propriétés des ondes électromagnétiques diffèrent selon la quantité d'énergie transportée<sup>[10]</sup>.

- Les OEM dont de longueur d'onde inférieure à 100 nm, ont une énergie suffisante pour rompre les liaisons chimiques et ioniser les molécules, nous les appelons ainsi, "rayonnements ionisants" (Figure 6).

- Les OEM de longueur d'onde supérieure à 100 nm, n'ont pas l'énergie suffisante pour briser les liaisons chimiques, nous les appelons "**rayonnements non ionisants**"<sup>[10]</sup>.

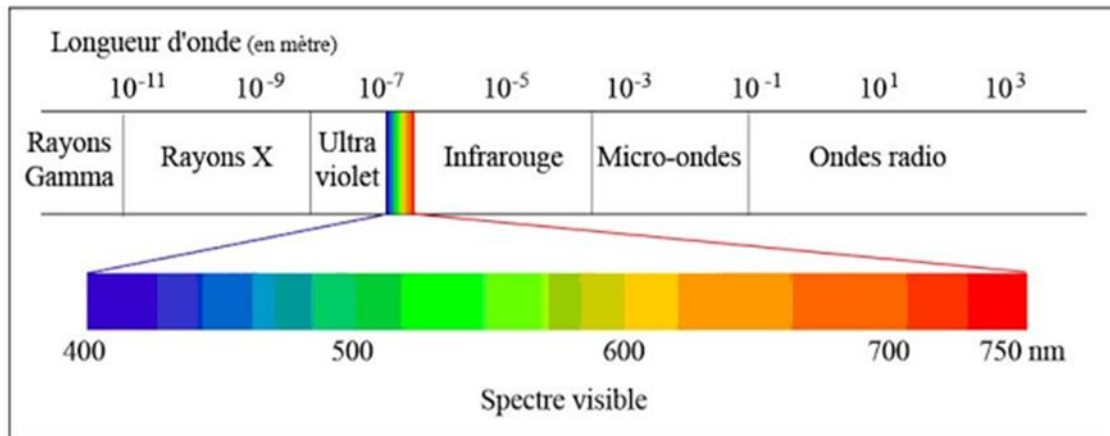


Figure 6 : Spectre électromagnétique<sup>[10]</sup>.

### 1.1.2.2.2. Rayonnement $\gamma$

Le rayonnement  $\gamma$  est porté par des corpuscules électriquement neutres, qui furent plus tard identifiés à des photons<sup>[11]</sup>. Ce rayonnement n'était pas dévié par des champs électriques ou magnétiques, contrairement aux rayons  $\alpha$  et  $\beta$ .

Les rayonnements  $\gamma$  sont obtenus par la désintégration d'un noyau atomique instable.

Ils diffusent une grande énergie et peuvent pénétrer la matière, ce qui représente un danger pour les cellules vivantes. Les rayonnements  $\gamma$  sont utilisés en médecine nucléaire, en radiothérapie et en industrie (stérilisation et désinfection). La protection contre les rayonnements  $\gamma$  est indispensable car ils peuvent entraîner des radiolésions<sup>[12]</sup> (Figure 7).

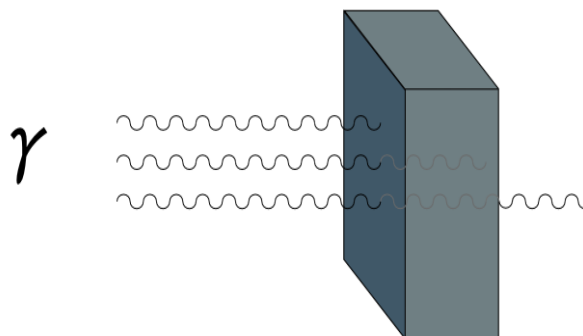


Figure 7 : Parcours du rayonnement  $\gamma$ <sup>[8]</sup>.

### II.1.2.2.1. Diagrammes de désintégration

Le diagramme de la désintégration du  $^{60}\text{Co} \rightarrow ^{60}\text{Ni}$  qui s'accompagne deux émissions  $\gamma$  de 1,17 et 1,33 MeV<sup>[5]</sup>(Figure 8).

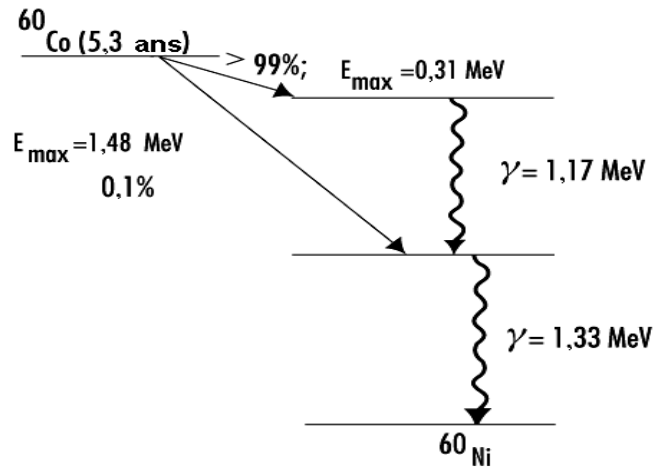


Figure 8 : Schéma de désintégration du cobalt  $^{60}\text{Co}$ <sup>[5]</sup>.

### II.1.2.2.3. Rayonnement X

Le rayonnement X (RX) naît soit d'un réarrangement électronique après éjection d'un électron d'une couche orbitale profonde d'un atome, il s'agit d'un RX de fluorescence, soit de la dissipation énergétique de l'interaction entre un flux d'électrons et les noyaux des atomes d'une cible, c'est un RX de freinage<sup>[5]</sup>.

#### a.1. Production des rayons X

Le procédé technologique consiste à utiliser un flux d'électrons qui frappe une surface métallique, les atomes sont excités et une partie de l'énergie des électrons se traduit par l'émission d'un rayonnement appelé X. Ce procédé nous permet de disposer de faisceaux de RX utilisables<sup>[6]</sup> (Figure 9).

Un courant électrique circule dans un filament et accélère les électrons par effet thermo-ionique. Ce filament constitue la cathode du tube à RX ; il est porté à un potentiel négatif. Les électrons formés sont accélérés par une haute tension appliquée entre la cathode et une cible, ou anode parfois aussi appelée anticathode, qui est portée à un potentiel fortement positif pour attirer les électrons<sup>[6]</sup>.



Les énergies des RX émis dépendent de celles des électrons qui frappent le métal et sont de l'ordre de plusieurs centaines de kilo électron-volts (keV).

L'ensemble de ce dispositif est placé dans une ampoule en verre dans laquelle est réalisé un vide poussé pour éviter la dispersion des électrons<sup>[5,6]</sup>.

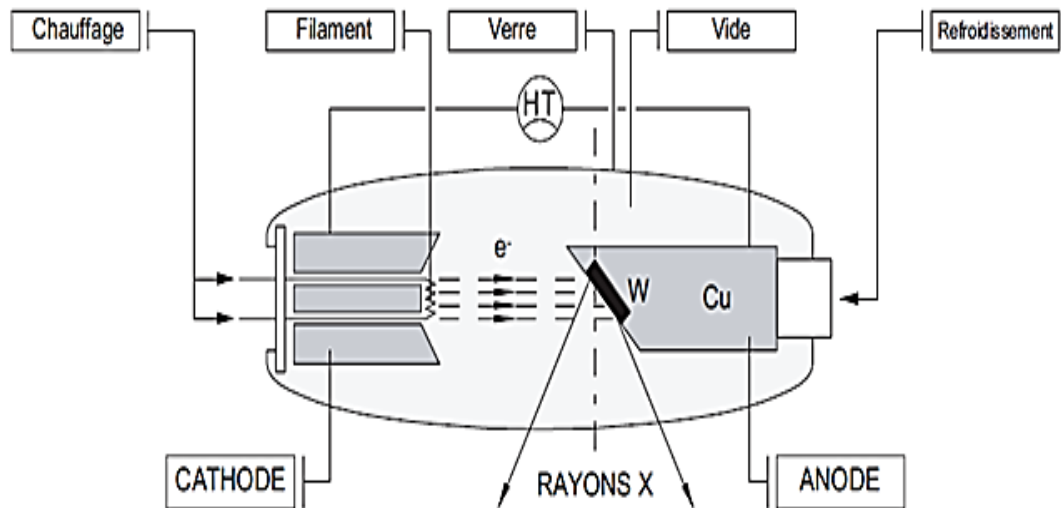


Figure 9 : Principe du fonctionnement d'un tube à rayons X<sup>[5]</sup>.

### a.2. Rayonnement de freinage

C'est le rayonnement émis par les électrons qui perdent de l'énergie lorsque leur trajectoire est modifiée par l'attraction coulombienne entre leur charge négative et la charge positive d'un noyau (Figure 10). Toutes les valeurs d'énergie sont possibles entre 0 quand il n'y a pas d'interaction et l'énergie totale de l'électron incident lors de l'arrêt complet. Ce rayonnement est polychromatique et l'ensemble des énergies qui le constitue réalise un spectre continu<sup>[5]</sup>.

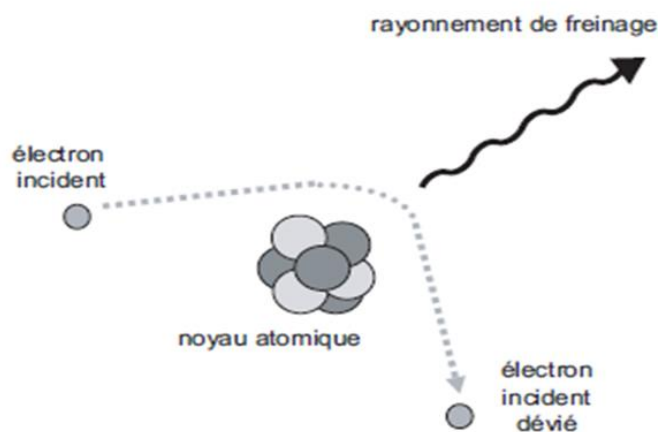
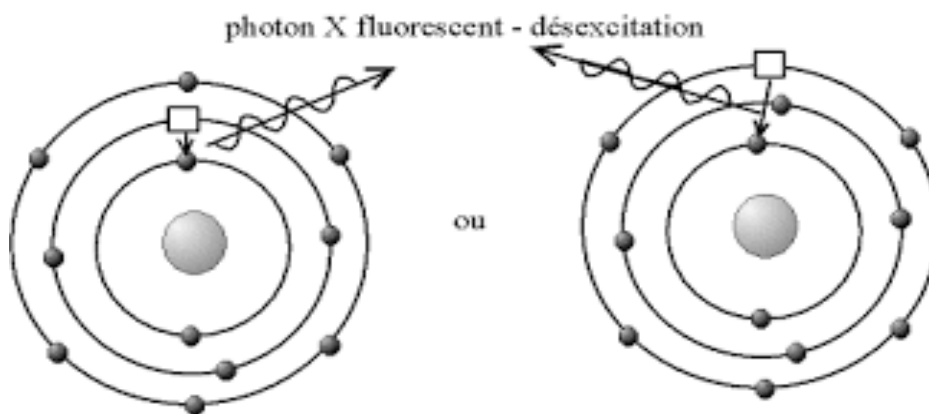


Figure 10 : Rayonnement de freinage<sup>[6]</sup>.

### a.3. Rayonnement de fluorescence

Le rayonnement X de fluorescence est dû à des collisions d'électrons incidents avec les électrons des orbites électroniques des atomes de la cible. Ces électrons, déplacés sur une orbite plus périphérique, restituent leur énergie lorsqu'ils regagnent cette orbite sous forme d'un RX (**Figure11**). Chacune de ces transitions émet un rayonnement de fluorescence mono-énergétique sous forme d'une raie, l'ensemble des raies constituant un spectre caractéristique de l'élément cible<sup>[5]</sup>.



**Figure 11 : Rayonnement de fluorescence<sup>[6]</sup>.**

C'est le rayonnement émis par les électrons qui perdent de l'énergie lorsque leur trajectoire est modifiée par l'attraction coulombienne entre leur charge négative et la charge positive d'un noyau. Toutes les valeurs d'énergie sont possibles entre 0 quand il n'y a pas d'interaction et l'énergie totale de l'électron incident lors de l'arrêt complet. Ce rayonnement est polychromatique et l'ensemble des énergies qui le constitue réalise un spectre continu<sup>[5]</sup>.

### III. RADIOACTIVITE

La radioactivité consiste en la manifestation spontanée d'une réaction nucléaire dans laquelle un noyau radioactif instable, se désintègre pour former un autre noyau et émettre une particule. C'est ainsi qu'il émet de l'énergie qualifiée de radioactive.

La cohésion du noyau est liée au nombre de protons et neutrons qui constituent le noyau. Lorsque celle-ci du noyau n'est plus assurée, il devient instable.

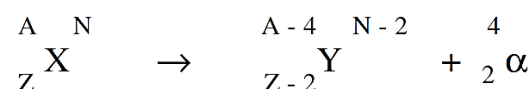
La désintégration peut-être naturelle, spontanée ou bien artificielle, provoquée par une réaction nucléaire ou en laboratoire.

La radioactivité est omniprésente sur terre et aussi dans l'univers. En effet, la fusion et la désintégration d'atomes instables sont des phénomènes courants<sup>[13]</sup>.

Certains noyaux atomiques instables sont la source de rayonnements, désignés par les trois premières lettres de l'alphabet grec : alpha ( $\alpha$ ), bêta ( $\beta$ ) et gamma ( $\gamma$ ). Ces rayonnements sont des particules émises par des noyaux avec une grande énergie<sup>[12]</sup>.

#### III.1. Désintégration $\alpha$

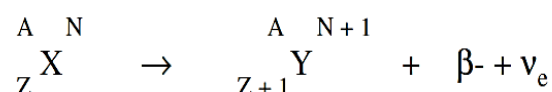
Tous les isotopes des éléments chimiques lourds, de Z supérieur à 82, sont radioactifs. Pour tendre vers la stabilité, ces isotopes doivent faire diminuer leur masse. Au sein de l'atome radioactif, deux protons et deux neutrons s'associent pour former un noyau d'hélium  ${}^4\text{He}$  qui, expulsé, constitue ce que l'on appelle le rayonnement  $\alpha$  selon la réaction suivante<sup>[7]</sup> :



#### III.2. Désintégration $\beta$ : il existe deux sortes de rayon $\beta$

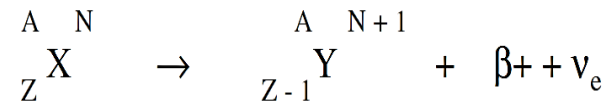
##### III .2.1. Désintégration $\beta^-$

Elle intervient en présence d'un excès de neutrons par rapport aux protons, il y a alors transformation d'un neutron (n) en proton ( $p^+$ ) avec émission d'un électron négatif ( $e^-$ ) ou particule ( $\beta^-$ ) et d'un anti-neutrino ( $\bar{\nu}$ ), c'est une particule neutre, de masse voisine de 0 selon la réaction suivante<sup>[10,14]</sup> :



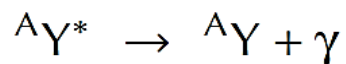
### 2.1 . Désintégration $\beta^+$

Elle intervient en présence d'un excès de protons par rapport aux neutrons. Il y a alors transformation d'un proton en neutron avec émission d'un électron positif ou positon ( $e^+$ ) ou particule ( $\beta^+$ ) et d'un neutrino ( $\nu$ ), c'est particule neutre, de masse voisine de 0 selon la réaction suivante<sup>[10,14]</sup> :



### III.3. Désexcitation $\gamma$

Le noyau fils peut se trouver dans un état excité, suite à une désintégration, sauf cas très particulier des noyaux métastables, celui-ci se désexcite instantanément, en général par émission d'un REM, le rayonnement  $\gamma$ , selon la réaction suivante <sup>[10,14]</sup>:



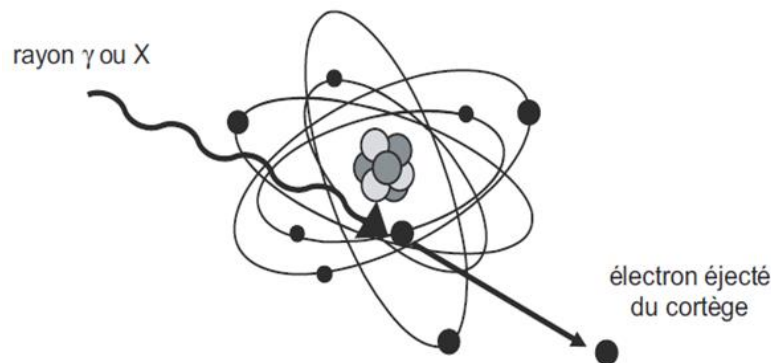
#### IV. INTERACTION DES RAYONNEMENTS ELECTROMAGNETIQUES AVEC LA MATIERE

Les effets des RI sur les êtres vivants résultent d'un transfert d'énergie, ou interaction, nous nous limiterons aux trois processus d'interaction rencontrés dans le biomédicale :

- **Effet photoélectrique ;**
- **Effet Compton ;**
- **Effet de production de paires<sup>[5,15]</sup>.**

##### IV.1.Effet photoélectrique

Un photon cède toute son énergie à un électron d'une couche profonde de l'atome et disparaît. L'énergie communiquée à l'électron mobilisé est dissipée dans le milieu. Le remplacement de l'électron éjecté par un électron d'une couche plus périphérique, puis en cascade, de chaque électron ainsi récupéré par une couche plus interne, dissipe de l'énergie sous forme d'un rayonnement de fluorescence<sup>[5,15]</sup> (**Figure 12**).



**Figure12 : Effet photoélectrique<sup>[6]</sup>.**

##### IV.2. Effet Compton

Un photon cède une partie de son énergie à un électron périphérique, l'énergie restante étant emportée par un photon diffusé. Ce photon diffusé peut être émis dans n'importe quelle direction à partir du point de collision. L'énergie cinétique fournie à l'électron lui permet de quitter son orbite mais elle s'épuise rapidement dans le milieu. Cette énergie est donc absorbée au voisinage du point où a eu lieu la collision<sup>[5,15]</sup> (**Figure 13**).

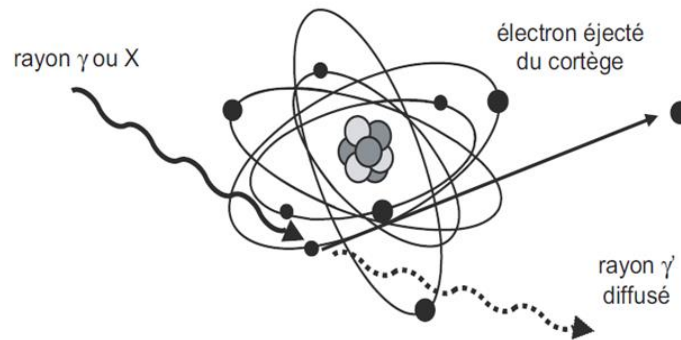


Figure 13 : Effet Compton<sup>[6]</sup>.

### IV.3. Effet de production de paires

Quand l'énergie du photon incident est supérieure à 1,02 MeV, il peut se produire, au voisinage du noyau, une création de matière, sous forme d'une paire d'électrons de signes opposés, dont la masse individuelle représente l'équivalent énergétique de 510 keV<sup>[5,16]</sup>.

L'excédent d'énergie du photon, au-dessus de 1,02 MeV, est partagé en énergie cinétique entre les deux électrons(**Figure14**). L'énergie cinétique de l'électron négatif est absorbée au voisinage du point de collision, ainsi que l'énergie cinétique du positon mais, en fin de parcours, ce dernier s'annihile avec un électron négatif du milieu, en émettant deux photons de 510 keV, de direction opposée<sup>[5,16]</sup>.

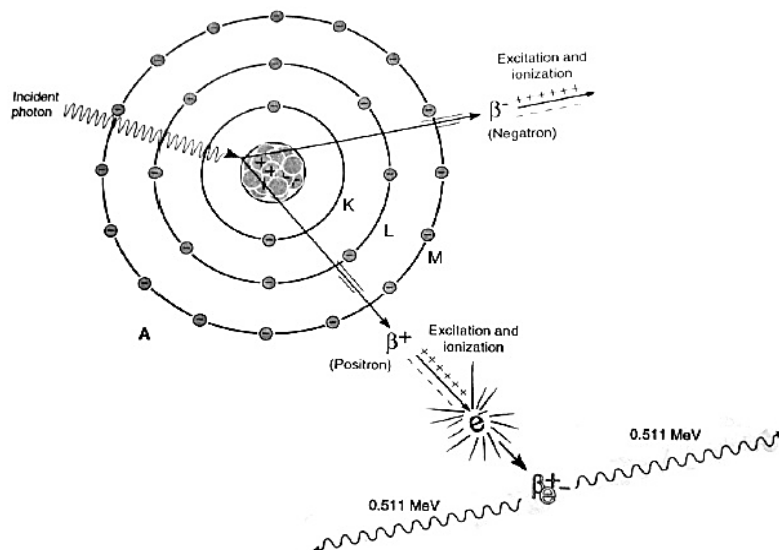


Figure14 : Effet de production de paires<sup>[7]</sup>.

### IV.4. Transfert d'énergie linéique (TEL)

La distribution des ionisations et excitations le long du trajet de la particule ionisante est variable selon le type de rayonnement : plus la particule ionisante est lourde et chargée, moins ces événements primaires sont dispersés. On peut définir chaque type de rayonnement par la quantité

d'énergie déposée par unité de longueur du trajet parcouru, le TEL ou transfert d'énergie linéique. Les rayons X et  $\gamma$  sont des rayonnements de faible TEL c'est-à-dire de faible densité d'ionisation, contrairement aux particules  $\alpha$  ou aux neutrons qui sont de TEL élevé ou de forte densité d'ionisation<sup>[17]</sup>.

Les rayonnements de faible TEL traversent de très grandes distances dans les tissus, contrairement aux rayonnements de TEL élevé. Cependant, L'efficacité des différents rayonnements en terme de mutations, morts cellulaires, aberrations chromosomiques, est caractérisée par l'EBR (Efficacité Biologique Relative)<sup>[17,18]</sup>.

### **IV.5. Efficacité biologique relative (EBR)**

L'EBR est le rapport entre l'effet produit par une dose absorbée D due au rayonnement étudié, et l'effet produit par la même dose absorbée D due au rayonnement témoin, souvent le rayonnement de référence est un RX de 250 keV. L'EBR dépend du type de rayonnement, de son énergie et de toutes les conditions d'irradiation, qu'il convient de préciser<sup>[17]</sup>.

## V. NOTIONS DE DOSIMETRIE BIOLOGIQUE

Le paramètre biologique mesuré étant les aberrations chromosomiques, celles-ci sont, en toute rigueur, le reflet de la dose reçue par les noyaux des cellules<sup>[19]</sup>.

### V.1 Grandeurs radiométriques

#### 1. Flux de particules

Le flux de particule est le nombre de particules émises, transférées ou reçues, en un point donné pendant un temps  $dt$ . Il s'agit donc d'un nombre de particules par  $cm^2.s$  <sup>[19]</sup>.

$$\varphi = \frac{d\Phi}{dt} = \frac{d^2N}{dS dt}$$

#### 2. Fluence

Lorsqu'un faisceau traverse une surface  $dS$ , supposée petite, qui lui est perpendiculaire, la fluence radiative de ce faisceau est le nombre des particules incidentes  $dN$  qui pénètrent, divisé par la surface  $dS$ <sup>[19]</sup>.

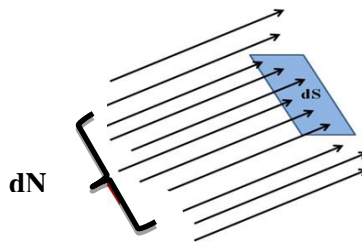


Figure 15 : fluence radiative<sup>[19]</sup>.

La formule peut s'appliquer à un nombre de photons aussi bien qu'à un nombre de particules chargées. L'unité est  $cm^{-2}$  <sup>[19]</sup>.

$$\phi = \frac{dN}{dS}$$

Pour une surface macroscopique, il s'agit de prendre la moyenne de l'expression ci-dessus:

$$\Phi = \frac{1}{S} \int_S \frac{dN}{dS} dS$$

#### 3. Fluence énergétique

D'unité  $J/cm^2$ , est la quantité d'énergie emportée par le faisceau au travers de la surface  $S$ <sup>[19]</sup>.

$$\Psi = \Phi E = \frac{dN}{dS} E$$



#### 4. Flux énergétique $\psi$

Le flux énergétique  $\psi$  est la fluence énergétique ramenée à la seconde, néanmoins cette quantité peut être aussi appelée intensité  $I$  du faisceau.

L'unité de flux énergétique est le joule par  $\text{cm}^2$  et par seconde, mais étant donné qu'une énergie par seconde correspond à une puissance il est fréquent d'utiliser plutôt le  $\text{watt}/\text{cm}^2$  [20].

$$I = \psi = \frac{d\Psi}{dt} = \frac{d^2N}{dS dt} E$$

#### 5. Débit de fluence

Le Débit de fluence est défini comme étant la fluence photonique par unité de temps. Unité de débit de fluence est  $\text{cm}^2 \cdot \text{s}^{-1}$  [20].

$$\varphi = \dot{\phi} = \frac{d\phi}{dt}$$

#### 6. Débit de fluence énergétique

Le débit de fluence énergétique est la fluence énergétique par unité de temps. L'unité de débit de fluence énergétique est  $\text{MeV} \cdot \text{cm}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$  [19].

$$\dot{\psi} = \frac{d\psi}{dt}$$

#### 7. L'angle solide $\Omega$

D'un cône de sommet  $A$  est numériquement égal à l'aire de la calotte sphérique  $S_c$  découpée par ce cône sur la sphère de centre  $A$  et de rayon unité. Cet angle s'exprime en stéradians ( $\text{sr}$ ) [20].

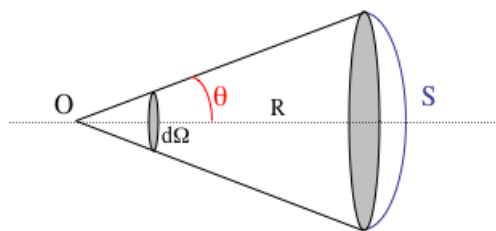


Figure 16 : Angle solide d'un objet vu d'un point [20].

On peut également dire que si la sphère est de rayon  $R$ , l'angle solide sous lequel on voit  $S_c$  depuis  $A$  est défini par [20].

$$\Omega = \frac{S_c}{R^2}$$

### V.2. Grandeurs dosimétriques

#### 1. Dose absorbée (D)

La dose absorbée est le quotient de l'énergie moyenne impartie par le rayonnement à la masse de matière  $m$

$$D = \frac{d}{m}$$

L'unité de dose absorbée est le gray (Gy).

Il s'agit d'une grandeur physique, utilisable quels que soient le rayonnement et le milieu considérés<sup>[19]</sup>.

#### 2. Débit de dose absorbée

Le débit de dose absorbée, noté  $D^\circ$  est la dose absorbée par unité de temps.

$$D^\circ = \frac{dD}{dt}$$

Dans le système international (SI), le débit de dose absorbée doit se mesurer en gray par seconde ( $\text{Gy}\cdot\text{s}^{-1}$ ). En pratique, on utilise souvent des sous-multiples, comme les  $\text{mGy}\cdot\text{h}^{-1}$ , compte tenu des activités manipulées. On utilise également les anciennes unités, le  $\text{rad}\cdot\text{h}^{-1}$ <sup>[20]</sup>.

$$1 \text{ Gy}\cdot\text{h}^{-1} = 100 \text{ rad}\cdot\text{h}^{-1}$$

$$1 \text{ mrad}\cdot\text{h}^{-1} = 10 \mu\text{Gy}\cdot\text{h}^{-1}$$

#### 3. Kerma

Acronyme anglais pour Kinetic Energy Release in Matter:

$$K = \frac{dE_{\text{tr}}}{dm} \text{ (Gy)}$$

Où  $dE_{\text{tr}}$  est la somme des énergies cinétiques initiales de toutes les particules chargées générées par les particules électriquement neutres dans le volume de masse  $dm$ . Le kerma est donc défini comme le rapport entre l'énergie transférée et la masse  $dm$ .

Le kerma est utilisé pour les particules électriquement neutres. Il peut être défini dans n'importe quel matériau.

Pour les besoins de la métrologie le milieu de référence est l'air pour les photons<sup>[20]</sup>.

#### 4. Dose équivalente (H)

La dose équivalente est la dose absorbée dans un organe, multipliée par le coefficient correspondant au rayonnement considéré elle s'exprime en sievert (Sv) ou millisievert (mSv)<sup>[19]</sup>.

$$H_T = D_{TR} \times W_R$$

Avec :

- **D<sub>TR</sub>**: Dose moyenne dans l'organe T due au rayonnement R en Gy ;
- **W<sub>R</sub>** : Facteur de pondération radiologique, s'applique à la dose moyenne reçue par le tissu ou l'organe irradié, il est relatif au RI (remplace l'ancien facteur de qualité « Q » pour biologiste)

Donc W<sub>R</sub> dépend du type et de l'énergie du RI est indépendant de la nature du tissu ou de l'organe irradié<sup>[20]</sup>.

**Tableau 1 : Facteur de pondération radiologique.**

W <sub>R</sub> = 1	X ; γ et e- : toutes énergies
W <sub>R</sub> = 5	Protons ; Neutrons de 10 keV
W <sub>R</sub> = 10	Neutrons : 10 -100 keV
W <sub>R</sub> = 20	Alpha ; Neutrons : 100 keV à 2 MeV [19]

#### 5. Dose efficace (E)

La dose efficace est un indicateur des risques des effets aléatoires, non directement mesurable. Il permet de rapporter une exposition locale à un effet théorique sur l'ensemble de l'organisme, en faisant intervenir les facteurs de pondération liés à la radiosensibilité tissulaire (W<sub>T</sub>). La dose efficace est obtenue en multipliant la dose équivalente délivrée à chaque organe, simultanément ou successivement, par le facteur de pondération correspondant puis en faisant la somme de l'ensemble, elle s'exprime en sievert (Sv) ou millisievert (mSv)<sup>[19]</sup>.

$$E = \sum H \times W_T$$

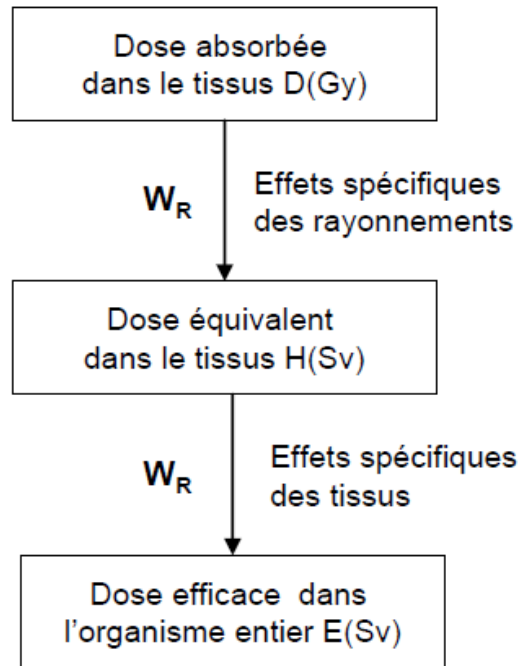
**Tableau 2 : Valeurs des facteurs de pondération tissulaire.**

Tissu ou organe	W <sub>T</sub> (%)	ΣW <sub>T</sub> (%)
Gonades	8	8
moelle osseuse (rouge), colon, poumons, estomac, seins	12	60
vessie, foie, œsophage, thyroïde	4	16
Peau, surface des os, cerveau, glandes salivaires	1	4
Autres tissus ou organes	12	12

## 6. Facteurs liant la dose au risque

La notion de dose absorbée dans la matière ne rend pas compte à elle seule des effets provoqués dans les tissus de l'organisme vivant (**Figure 17**).

L'effet des RI sur les organismes vivants dépend de la dose absorbée dans les tissus, mais également de la nature du rayonnement et de la sensibilité des tissus ou organes exposés<sup>[19]</sup>.



**Figure 17: Facteurs de qualité et effets spécifiques des RI<sup>[19]</sup>.**

## 7. Exposition et débit d'exposition

L'exposition et débit d'exposition est une grandeur spécifique de l'action des photons, dans cette grandeur dosimétrique permet de quantifier la quantité de rayonnement, en particulier X présent en un point donné à l'ordre d'une chambre d'ionisation, L'exposition :

$$X = \frac{dQ}{dm} = C/kg$$

Débit d'exposition :

$$X^\circ = \frac{dx}{dt} = A/Kg$$

**dQ**: représente la valeur absolue de toutes les charges produites dans l'air quand tous les ( $e^-$  et  $e^+$ ) libérés par l'action des photons dans ( $dv$ ,  $dn$ ) sont complètement arrêtés<sup>[20]</sup>.

### VI. ORDRES DE GRANDEURS ET VARIETES DES EXPOSITIONS

#### VI.1. Modes de contaminations par les irradiations

L'exposition de l'homme est définie par la mise en présence par contact ou non de l'organisme aux différents types de rayonnements<sup>[7]</sup>.

**VI.1.1. L'exposition externe** résultant de sources radioactives situées en dehors de l'organisme. Cette exposition peut être globale si elle concerne l'ensemble de l'organisme de façon homogène, ou partielle si une ou plusieurs parties ou organes sont exposés, l'exposition totale la somme des expositions externe et interne<sup>[7]</sup>.

**VI.1.2. La contamination radioactive** est définie comme étant la présence indésirable, à un niveau significatif, de substances radioactives à la surface ou à l'intérieur d'un milieu quelconque<sup>[7]</sup>.

#### VI.2 Expositions naturelles

Les expositions naturelles sont composées des rayonnements cosmique, tellurique par filiations du thorium et de l'uranium incluant le radon-222 et ceux issus du vivant tel que le potassium-40 et le carbone-14.

Aucun endroit sur terre n'échappe à la radioactivité naturelle. En théorie, pour s'en échapper au maximum, il faudrait se situer au-delà de 1000 m d'altitude pour limiter l'effet du rayonnement tellurique et du radon mais en deçà de 3000 m pour ne pas trop subir le rayonnement cosmique : une condition atteinte dans une montgolfière, où le risque de chute mortelle sera toujours plus élevé que le risque radiatif<sup>[21]</sup>.

#### VI.3 Expositions médicales

Lors d'une radiothérapie classique, les doses de rayons gamma de haute énergie (6-25 MeV) délivrées par séance sont de l'ordre du Gy et sont généralement répétées quotidiennement pendant tout le traitement. Le contournage de la tumeur et la diffusion des rayonnements secondaires rendent inévitable l'exposition des tissus sains à de faibles doses<sup>[21]</sup>.

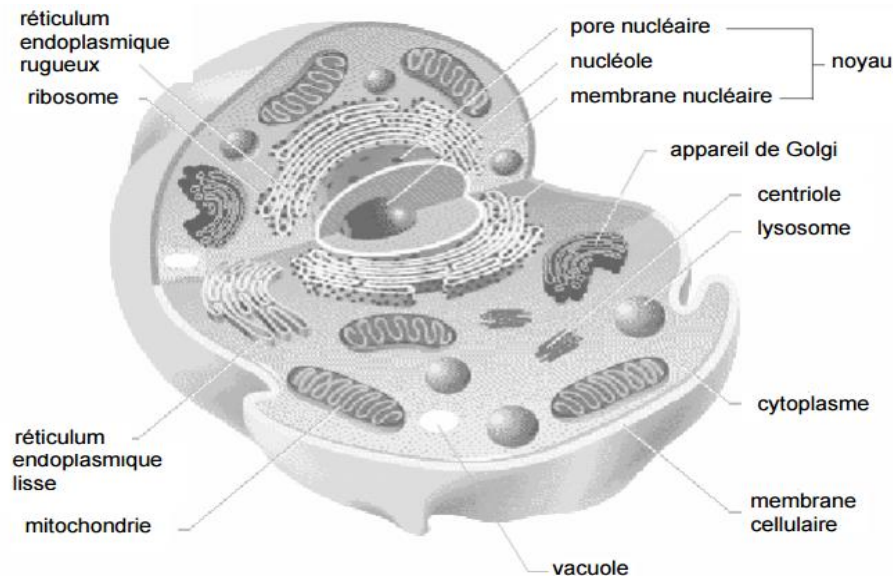
#### VI.4 Expositions professionnelles

Les expositions professionnelles sont limitées par la réglementation sur l'heure pour la définition du zonage et sur l'année d'exposition (catégories de travailleurs A et B) : un travailleur de catégorie A ne doit pas dépasser 20 mSv/an et 100 mSv sur 5 ans<sup>[21]</sup>.

## I. BIOLOGIE CELLULAIRE

### I.1. La cellule

La cellule est l'unité structurale, fonctionnelle et reproductrice constituant tout ou partie d'un être vivant. La cellule, en latin s'appelle « cellula » signifie petite chambre<sup>[22]</sup> (**Figure 18**).



**Figure 18 : Cellule animale vue en trois dimensions<sup>[22]</sup>.**

### I.2. Noyau cellulaire

Le noyau est le plus gros des organites, il agit comme le centre de contrôle de la cellule et a deux fonctions principales :

- contrôler les réactions biochimiques du cytoplasme, telle la synthèse des protéines,
- stocker l'information nécessaire à la division cellulaire, mitose ou méiose.

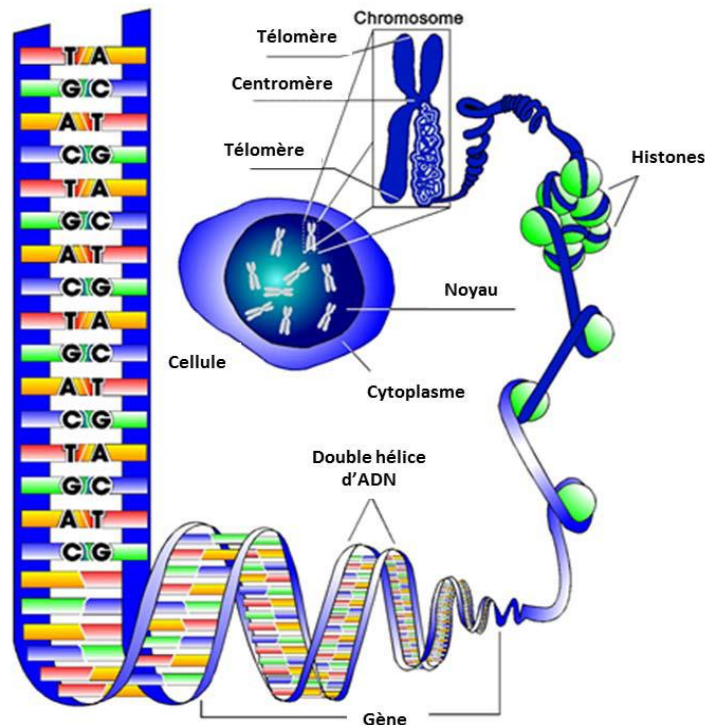
Le noyau contient du matériel génétique, l'ADN qui se présente sous forme de chromosomes ou de chromatines, ce dernier est entouré d'une membrane nucléaire<sup>[22]</sup>.

### I.3. Chromosome

Le chromosome se caractérise par une double hélice d'ADN longue et continue qui peut être enroulée autour d'un grand nombre d'histones, appelé protéines nucléaires et condensée plusieurs fois de manière compacte en forme de spirale (**Figure 19**). Les chromosomes sont porteurs des gènes<sup>[23]</sup>.

Une cellule somatique normale est composée de 46 chromosomes:

- 22 paires d'autosomes,
- une paire de chromosomes sexuels (2 chromosomes X chez la femme, un chromosome X et un chromosome Y chez l'homme)<sup>[23]</sup>.



**Figure 19 : Différents niveaux de condensation de la chromatine<sup>[32]</sup>.**

Les chromosomes, qui ne sont visibles dans la cellule qu'à un moment particulier de la mitose, sont constitués :

- d'un centromère;
- de bras ;
- de télomères, qui terminent les bras et ont la particularité d'empêcher les extrémités des bras de se "coller" à d'autres extrémités de bras<sup>[22]</sup> (**Figure 19**).

### I.4. Acide Désoxyribonucléique (ADN)

L'ADN est une longue molécule que l'on retrouve dans tous les organismes. La structure originale est formée de deux brins complémentaires enroulés en double hélice, lui permet de se dupliquer en deux molécules identiques entre elles et identiques à la molécule mère lors du phénomène de réplication ou duplication (**Figure 20**). L'ADN est le support de l'hérédité<sup>[23]</sup>.

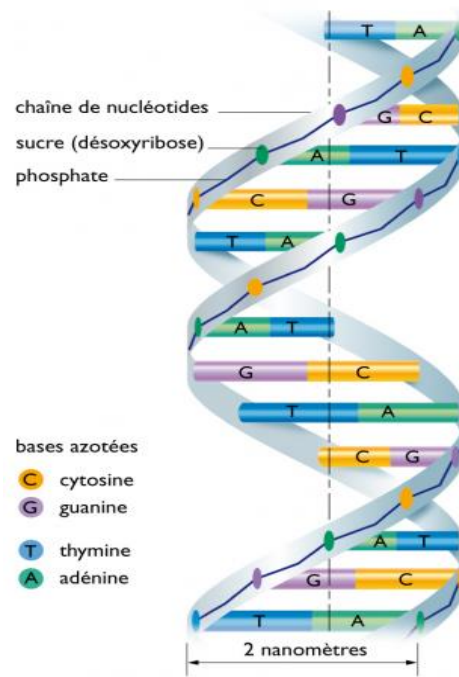


Figure 20 : structure hélicoïdale de l'ADN<sup>[23]</sup>.

### I.5. Le gène

Unité d'hérédité contrôlant un caractère particulier. Cet élément génétique correspondant à un segment d'ADN ou d'acide ribonucléique (ARN), situé à un locus bien précis sur un chromosome. Chaque région de l'ADN qui produit une molécule d'ARN fonctionnelle est un gène<sup>[22]</sup>.



### II. CYCLE CELLULAIRE

Le cycle cellulaire correspond aux différentes étapes de vie d'une cellule de la division de sa cellule mère jusqu'à sa propre division en deux cellules filles (**Figure 21**). Il comprend l'interphase et la phase mitotique <sup>[24]</sup>.

#### II.1. Interphase

L'interphase représente 90% du cycle cellulaire et comprend les phases G1, S et G2 :

- **Phase G1** ; c'est une phase de croissance cellulaire et de préparation à la réplication de l'ADN, elle dure environ 12h,
- **Phase S** ; c'est la phase de synthèse d'ADN. C'est durant celle-ci que s'effectue la réplication de l'ADN, elle dure environ 8h (**Réplication de l'ADN** se déroule dans le noyau permettant ainsi de former deux molécules d'ADN à partir d'une seule molécule initiale).
- **Phase G2** ; c'est la phase de croissance et de préparation à la mitose, elle dure environ 3h.

#### II.2. Phase mitotique : La mitose

La mitose est la division cellulaire, elle forme deux cellules filles au patrimoine génétique identique entre elles et identique à celui de la cellule mère, la mitose est séparée en 4 phases différentes : la prophase, la métaphase, l'anaphase et la télophase.

- **Prophase** : condensation de la chromatine, disparition du nucléole, fragmentation de la membrane nucléaire, mise en place du fuseau mitotique.
- **Métaphase** : les chromosomes se placent sur le plan équatorial de la cellule, les centrioles se placent aux pôles cellulaires et le fuseau de division se forme. Les microtubules se lient aux centromères.
- **Anaphase** : séparation des chromatides sœurs. Le raccourcissement des microtubules entraîne les chromosomes à une chromatide vers les pôles cellulaires.
- **Télophase** : les chromosomes se décondensent, l'enveloppe nucléaire se reforme, la cellule s'allonge. La télophase se termine par la cytotélocytose, division du cytoplasme, le cytosquelette permet l'étranglement de la cellule et sa division en deux cellules filles.

Les cellules issues de la mitose peuvent commencer le cycle cellulaire ou devenir quiescentes (phase G0), c'est-à-dire qu'elles stoppent leur métabolisme.

La mitose permet le renouvellement des cellules somatiques <sup>[24]</sup>.

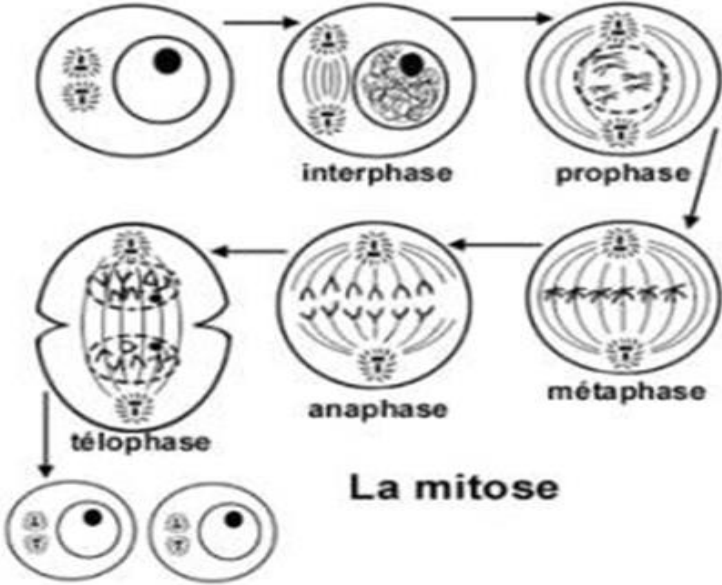


Figure 21 : Différentes étapes de la mitose<sup>[24]</sup>.

### III. INTERACTIONS DES RAYONNEMENTS IONISANTS AVEC LA MATIÈRE

Les effets biologiques d'une irradiation sont l'aboutissement d'une longue série de phénomènes qui est déclenchée par le passage du rayonnement dans le milieu<sup>[5, 25]</sup>.

Les effets sont décrits à 5 différents niveaux<sup>[25]</sup> (Figure 22).

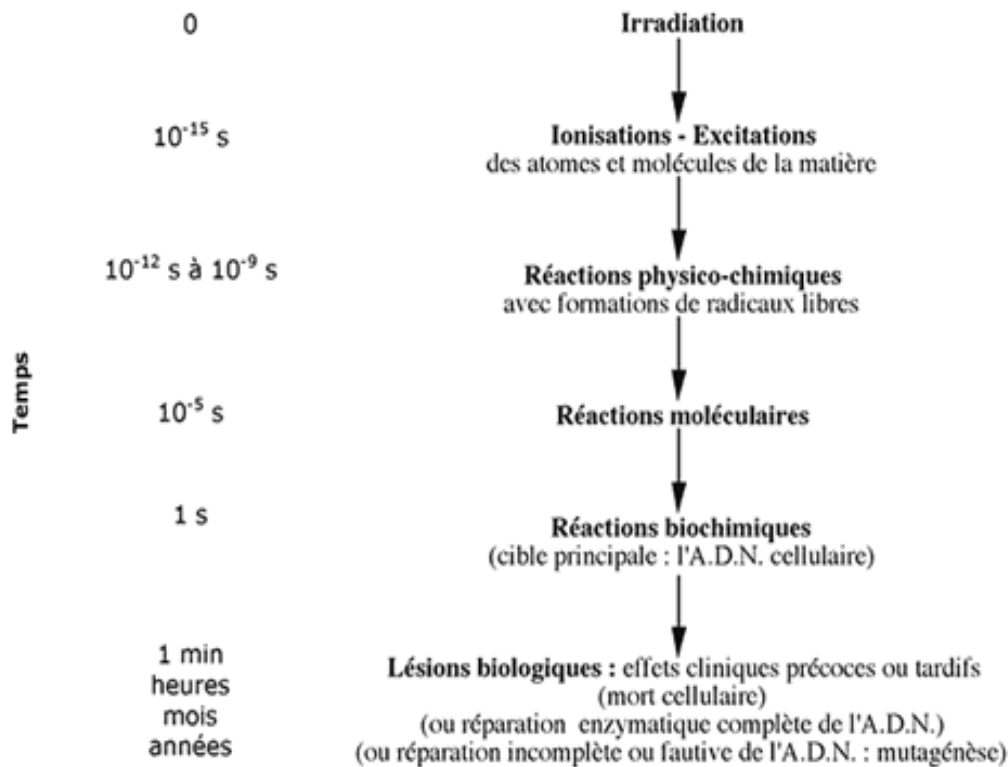


Figure 22 : Chronologie des évènements lors d'une interaction des RI avec la matière<sup>[5]</sup>.

L'effet résulte d'une chaîne de réaction déclenchée par les ionisations et les excitations qui aboutissent à endommager des éléments indispensables à la vie cellulaire.

L'atteinte de ceux-ci s'explique par un effet direct ou indirect<sup>[25, 26]</sup>.

#### III.1. Effets physico-chimiques

##### III.1.1. Effets physico-chimiques directs

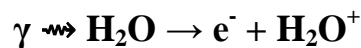
L'ionisation ou l'excitation d'une molécule entraîne une réorganisation des électrons qui assurent sa cohésion, susceptible de provoquer la rupture des liaisons chimiques et la destruction de la molécule. Si celle-ci a une importance vitale, les conséquences sont importantes<sup>[25, 26]</sup>.

### III.1.2. Effets physico-chimiques indirects

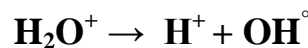
Les effets biologiques des radiations s'expliqueraient par l'action sur des structures sensibles, de produits diffusibles provenant de la radiolyse de l'eau<sup>[25, 26]</sup>.

#### III.1.2.1. Radiolyse de l'eau

On a constaté que l'eau irradiée était très réactive, elle entraînait facilement des modifications chimiques des corps dissous. Cette réactivité résulte de la formation dans l'eau irradiée de radicaux libres. Un radical libre (atome, molécule, groupement d'atomes ou fragment molécule) est porteur d'un électron célibataire, c'est-à-dire non couplé à un électron de spin opposé. Il possède de ce fait une haute réactivité chimique<sup>[25, 26]</sup>.



Le radical libre  $\text{H}_2\text{O}^+$  est très instable et se dissocie en  $10^{-10}$  à  $10^{-16}$  s sur place, selon la réaction :



L'hydroxyle ( $\text{OH}^\circ$ ) est formé au voisinage de la trajectoire de la particule. L'électron est projeté à distance, il parcourt 100 à 150 Å. Quand il est suffisamment ralenti, il s'associe à une molécule  $\text{H}_2\text{O}$  selon la réaction :



### III.2. Lésions des constituants cellulaires

Les effets physico-chimiques des RI, s'exercent sur l'ensemble de ces constituants. Ils ne revêtent toutefois pas tous la même importance, du fait du rôle de chacun et de leur capacité à supporter et réparer les lésions occasionnées.

Nous nous intéresserons particulièrement aux constituants du noyau, qui sont le support essentiel des lésions radio induites efficaces<sup>[25-27]</sup>.

#### III.2.1. Lésions membranaires

Les plus importantes seraient la peroxydation des acides gras. Elles peuvent conduire à :

- des altérations des structures membranaires,
- des pontages lipides-protéines, en association avec des lésions des protéines.

La conséquence est la dégradation des récepteurs membranaires, des systèmes de transport et flux ioniques<sup>[25, 26]</sup>.

### III.2.2. Lésions cytoplasmiques

Elles sont à l'origine de déstabilisation de l'architecture cellulaire, par altération du cytosquelette.

On a longtemps considéré qu'elles avaient une importance réduite. En fait elles pourraient avoir un rôle qui reste à préciser dans la dénaturation de molécules impliquées dans la communication entre cellules et les effets non ciblés.

L'ensemble des lésions cytoplasmiques et membranaires, pour de fortes doses, se traduit par un phénomène de type inflammatoire<sup>[25, 26]</sup>.

### III.2.3. Lésions du noyau

Le fondement classique de la radiobiologie veut qu'au sein de ce noyau, la cible critique, voire unique, soit l'ADN, considéré comme le porteur exclusif du patrimoine génétique et de son expression. Il considère les lésions radio-induites de l'ADN comme le mécanisme des effets biologiques des RI.

Il faut distinguer :

- des effets liés à des modifications de l'ADN, qui restent l'essentiel,
- des effets sans atteinte du code génétique, dit « effets épigénétiques »<sup>[25-27]</sup>.

### III.2.4. Lésions de l'ADN

Les lésions de l'ADN sont potentiellement nombreuses et de toutes natures. Elles sont liées aux lieux d'impact des interactions rayonnements-matière et certainement aussi à des fragilités de la molécule d'ADN, à distance de l'impact<sup>[27-29]</sup>(**Figure 23**).

Les principales lésions décrites sont :

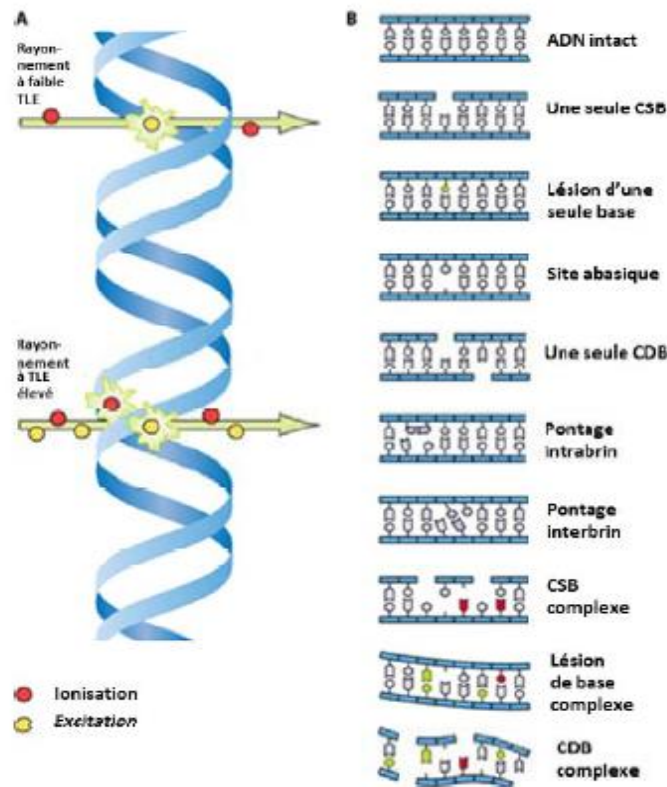
- **Les cassures simples** : un seul brin de la double hélice est cassé<sup>[27-30]</sup>.
- **Les lésions doubles brin** : ce sont des lésions des 2 chaînes de l'ADN.
- **Les altérations des bases** : elles sont appelées nucléotides, nous distinguons des lésions uni ou bilatérales.

Elles ont pour conséquences des distorsions de la structure de l'ADN ou plus généralement des "erreurs d'écriture dans le code génétique" :

- **Pontages au sein de l'ADN** : nous distinguons des pontages intrabrins et interbrins. Les plus courants de ces pontages sont des dimérisations de bases, en particulier de thymine.
- **Liaisons avec des protéines** : (histones et protéines chromosomiques)<sup>[31]</sup>.

Les lésions, mal réparées, conduiront à des remaniements des chromosomes, rendus visibles par différentes techniques de cytogénétique.

Les lésions avec des protéines ne sont pas spécifiques des RI. Elles existent pour de nombreux agents agressifs, chimiques ou physiques (UV...), et apparaissent spontanément au cours de la vie de la cellule comme un stress oxydatif ou comme un vieillissement<sup>[27, 29, 32]</sup>.



**Figure 23 : Caractéristiques d'ionisation des RI à faible et à TEL élevé (A), et lésions de l'ADN radio-induites (B)<sup>[32]</sup>.**

### III.2.4.1. Mécanismes de réparation de l'ADN

Selon le type de dommage à l'ADN, il existe différentes voies de réparation. Globalement, la première étape consiste en la reconnaissance du dommage par les protéines détectrices (sensors). Cela va permettre le recrutement de protéines médiatrices (mediators) et transductrices (transducers) permettant la signalisation du dommage et l'activation de protéines effectrices (effectors)<sup>[29]</sup>.

La réparation des cassures simples brins (CSB) se fait par une partie de la voie de réparation par excision de bases (BER) appelée la voie de réparation des CSB (SSBR) (**figure 24A**). BER prend en charge les bases endommagées<sup>[29]</sup>.

La réparation des cassures doubles brins (CDB) de l'ADN se fait par deux voies principales: la recombinaison homologue (HR), (**figure 24B**) et la suture non homologue (Non Homologous End Joining) (NHEJ) (**figure 24C**)<sup>[29]</sup>.

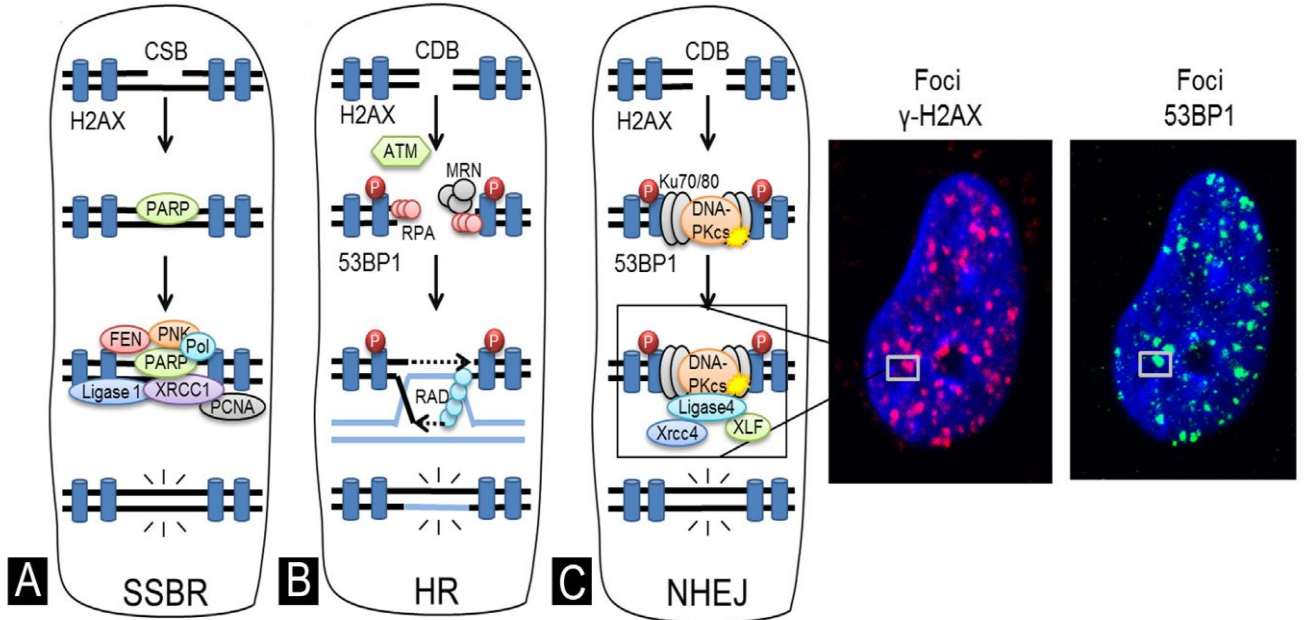


Figure 24 : Représentation schématique des voies de réparation des cassures simples et doubles brins<sup>[29]</sup>.

#### IV. ABERRATIONS CHROMOSOMIQUES

Certains effets sur l'ADN constituent les lésions primaires des aberrations chromosomiques, qui se traduiront par des remaniements. La plupart du temps, les réparations, fidèles, amènent à un bilan lésionnel nul tandis que les réparations fautives peuvent amener des remaniements chromosomiques<sup>[26]</sup>.

##### IV.1. Classification des remaniements chromosomiques

Dès lors qu'un bras est cassé suite à l'effet des RI, les lésions donnent lieu à des remaniements chromosomiques qui peuvent être toutes les pertes ou recollages imaginables, parmi lesquels on retient<sup>[26]</sup> (Figure 25):













			INTRACHANGES	Chromatid aberrations	
normal	gap	fragment			
			INTERCHANGES	Chromosome aberrations	
normal	exchanges				
					INTRACHANGES
normal	terminal deletion	inversion	interstitial deletion	centric or acentric Rings and fragments	
			INTERCHANGES	Chromosome aberrations	
normal	dicentric and fragments				interchanges

Figure 25 : Différents types des remaniements chromosomiques<sup>[26]</sup>.

##### IV.1.1. Délétions terminales

Constituent une perte de l'extrémité d'un bras donnant des fragments, interstitielles donnant des anneaux acentriques par collage des extrémités d'un même chromosome<sup>[26, 32]</sup>.

##### IV.1.2. Echanges interchromosomiques

Sont asymétriques donnant des anneaux dicentriques par collage de deux chromosomes<sup>[26]</sup>, et symétriques donnant des translocations par échange de fragments entre chromosomes<sup>[32,33]</sup>.



### IV.1.3. Echanges intrachromosomiques

Les échanges intrachromosomiques sont asymétriques donnant des anneaux centriques par collage entre eux de bras d'un même chromosome et symétriques par inversion péri ou para centriques par échange de fragments d'un même chromosome<sup>[26, 32,33]</sup>.

Ces lésions conduisent à deux types d'anomalies :

- **anomalies instables** qui aboutissent à des mitoses abortives, du fait des aberrations résultantes du partage très inéquitable du matériel génétique entre les cellules filles<sup>[26]</sup>,
- **anomalies stables** : Ce sont des aberrations qui assure le partage viable de l'information génétique entre les cellules filles et n'empêchent pas le déroulement de la mitose<sup>[26, 34]</sup>.

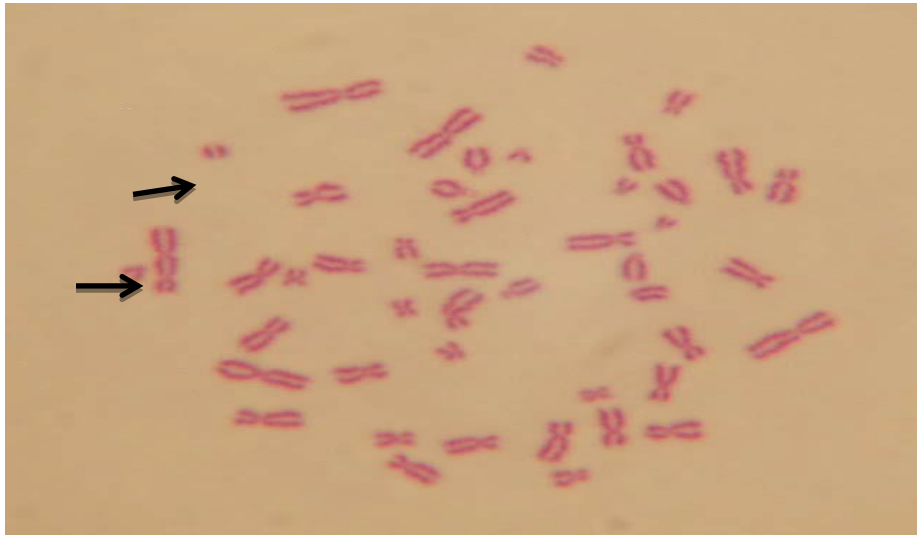
## IV.2. Aberrations instables

### IV.2.1. Anomalie dicentriques

Les dicentriques sont des remaniements chromosomiques relativement spécifiques aux RI. Ils indiquent une irradiation récente, et ils n'accèdent pas à la deuxième division cellulaire. Cette aberration chromosomique va faire l'objet de notre étude.

En absence d'irradiation, on dénombre 1dicentrique pour 1300 cellules environ<sup>[35]</sup>. De plus, leur configuration très atypique les rend facilement décelable après une coloration simple par Giemsa et observation au MO. En effet, le taux de ces aberrations augmente en fonction de la dose reçue par la victime. Par conséquent, ces aberrations chromosomiques représentent des bio-marqueurs de choix, pour estimer une exposition aux RI relativement récents et en cas d'irradiation globale et homogène<sup>[36,37]</sup>.

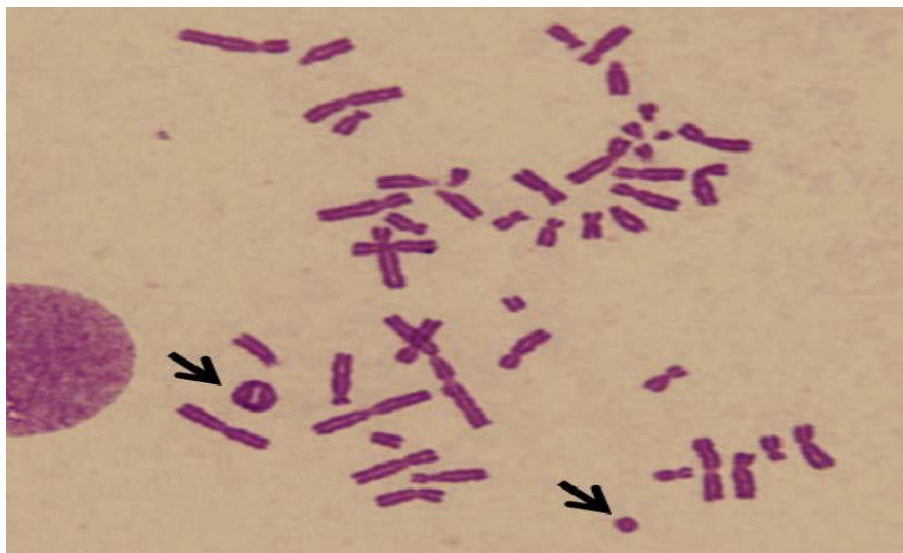
Dans sa forme complète, ce chromosome est accompagné d'un fragment acentrique constitué des parties acentriques des chromosomes originaux. Des configurations multicentriques peuvent se former, surtout après qu'une dose élevée a été reçue. Les chromosomes tricentriques sont accompagnés de deux fragments, les quadricentriques de trois fragments<sup>[32]</sup>(**Figure 26**).



**Figure 26: Chromosome dicentrique accompagné de son fragment acentrique (coloration au Giemsa)<sup>[32]</sup>.**

#### IV.2.2. Anneaux centriques

Dans les lymphocytes humains, les anneaux centriques sont beaucoup plus rares que les dicentriques. Pour estimer la dose reçue, certains chercheurs les associent aux dicentriques tandis que d'autres choisissent de les ignorer. Le chromosome en anneau est le résultat d'un échange survenu à la suite de deux cassures sur des bras distincts du même chromosome et est également accompagné d'un fragment acentrique<sup>[32]</sup> (**Figure 27**).



**Figure 27 : Étalement métaphasique, en coloration au Giemsa, montrant deux anneaux, un chromosome dicentrique et des fragments acentriques<sup>[32]</sup>.**

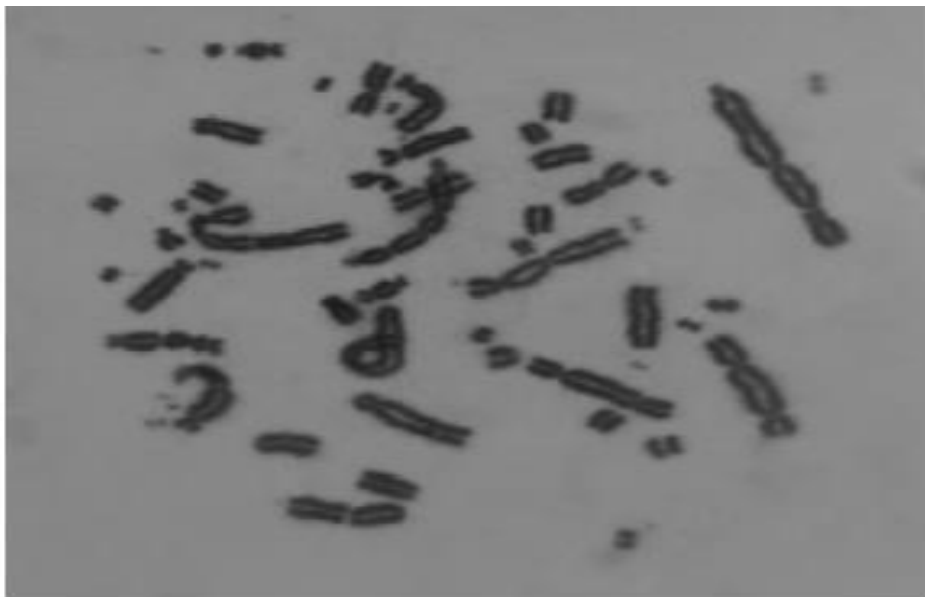
### IV.2.3. Fragments acentriques

Des aberrations acentriques sont généralement appelées fragments excédentaires. Il peut s'agir de délétions terminales ou interstitielles de taille variable, mais il n'est pas toujours possible de déterminer leur origine. Elles sont par conséquent regroupées.

Les anneaux acentriques, pour lesquels on peut observer un espace vide à l'intérieur d'une petite structure circulaire, sont normalement considérés comme le résultat des délétions interstitielles alors que les chromosomes minuscules doubles, qui se présentent comme des paires de petites taches complètement colorées, résultent principalement de délétions terminales<sup>[32]</sup>.

### IV.2.4. Cellules rogues

Les cellules rogues présentent un nombre de lésions chromosomiques extrêmement élevé sans raison évidente (**Figure 28**). Les cassures et les réarrangements de chromosome sont si nombreux qu'il est difficile de trouver plus d'un ou deux chromosomes d'apparence normale, c'est-à-dire monocentriques<sup>[32]</sup>.

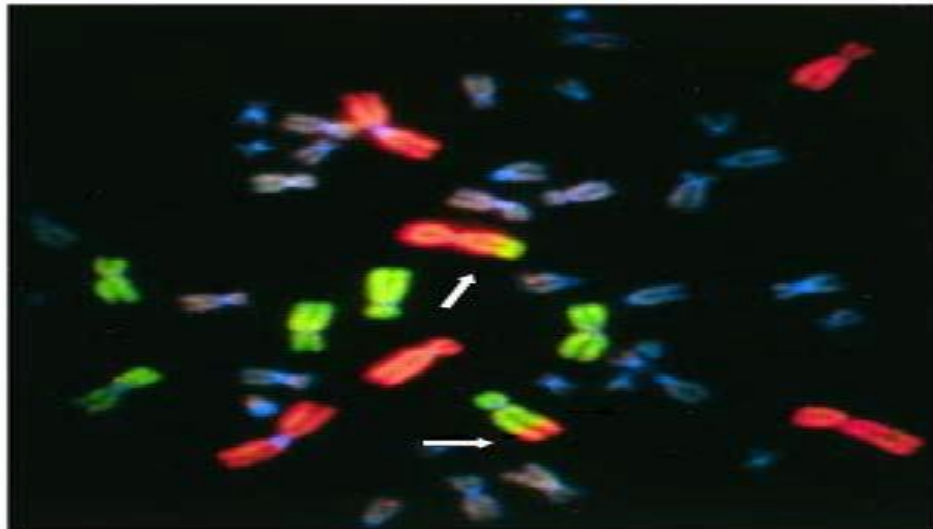


**Figure 28:** Cellule rogue observée parmi 500 cellules normales en métaphase<sup>[32]</sup>.

## IV.3. Aberrations stables

### IV.3.1. Translocations réciproques

Une translocation réciproque est un échange des parties terminales entre deux chromosomes distincts (**Figure 29**), les chromosomes concernés apparaissent alors sous forme de chromosomes monocentriques bicolores<sup>[32]</sup>.



**Figure 29 : Étalement en métaphase illustrant la « peinture » chromosomique par FISH, utilisée pour détecter les translocations.**

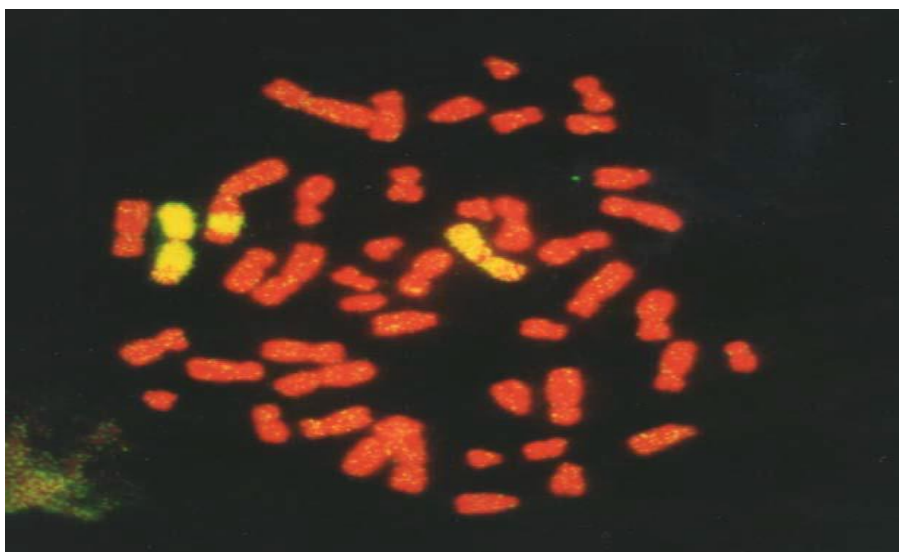
*Les paires de chromosome 1, 2 et 4 sont « peintes » en rouge et les paires de chromosomes 3, 5 et 6 sont « peintes » en vert. Une translocation réciproque a eu lieu sur les deux chromosomes bicolores (2 et 5), lesquels ont échangé des segments aux extrémités de leur bras long (reproduit avec l'aimable autorisation de MM. (Ramsey et Tucker, LLNL, États-Unis)<sup>[32]</sup>.*

#### **IV.3.2. Translocations non réciproques**

Lorsque l'on n'observe qu'un seul chromosome bicolore, on parle en général de translocation non réciproque<sup>[32]</sup>.

##### **IV.3.2.1. Translocations interstitielles (insertions)**

Ce type d'aberration se forme lorsqu'une partie acentrique d'un chromosome s'insère dans le bras d'un autre chromosome (**Figure 30**). Ce dernier apparaît alors bicolore<sup>[32]</sup>.



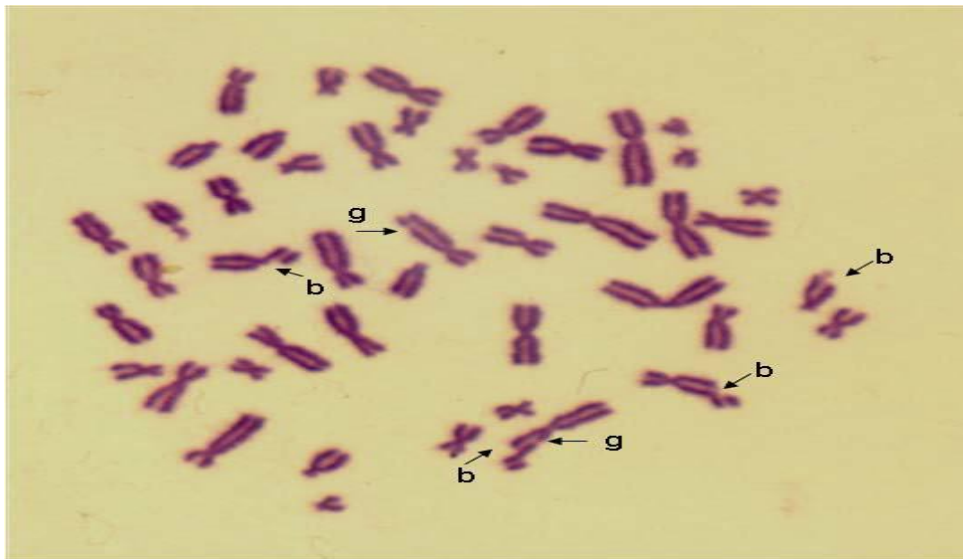
**Figure 30 : Étalement de cellules humaines en métaphase comportant une insertion.**  
*En jaune : la paire de chromosomes 1, et tous les autres sont contre-colorés à l'iodure de propidium<sup>[32]</sup>.*

#### IV.4. Aberrations chromatidiques

Les aberrations chromatidiques sont généralement classées de la même manière que les aberrations de type chromosomique (**Figure 31**). Dans ce cas, seule une des deux chromatides et non l'ensemble du chromosome, comme pour une aberration de type chromosomique est en apparence concernée dans la plupart des cas<sup>[32]</sup>.

##### IV.4.1. Délétions terminales et délétions interstitielles

Une délétion terminale est un déplacement sensible du fragment de chromatide situé du côté de l'extrémité par rapport à la lésion<sup>[32]</sup>.



**Figure 31 : Étalement en métaphase sur lequel apparaissent des chromatides cassés (b) et des trous (g)<sup>[32]</sup>.**

##### IV.4.2. Lésions achromatiques

Les lésions achromatiques (trous), sont des zones non ou très légèrement colorées des chromosomes présentes sur une chromatide unique ou sur les deux chromatides sœurs, en des locis apparemment identiques (double)<sup>[32]</sup>.

##### IV.4.3. Délétions isochromatidiques

Les délétions isochromatidiques constituent une exception dans la catégorie des aberrations chromatidiques car elles concernent les deux chromatides, apparemment avec des «cassures» au même endroit sur les deux chromatides<sup>[32]</sup>.

#### IV.4.4. Échanges asymétriques

Les échanges asymétriques, entre les deux bras ou asymétriques sur la même chromatide, sont les équivalents chromatidiques des dicentriques<sup>[32]</sup>.

#### IV.4.5. Échanges symétriques

Les échanges chromatidiques symétriques, sont les équivalents chromatidiques des translocations réciproques<sup>[32]</sup>(Figure 32).

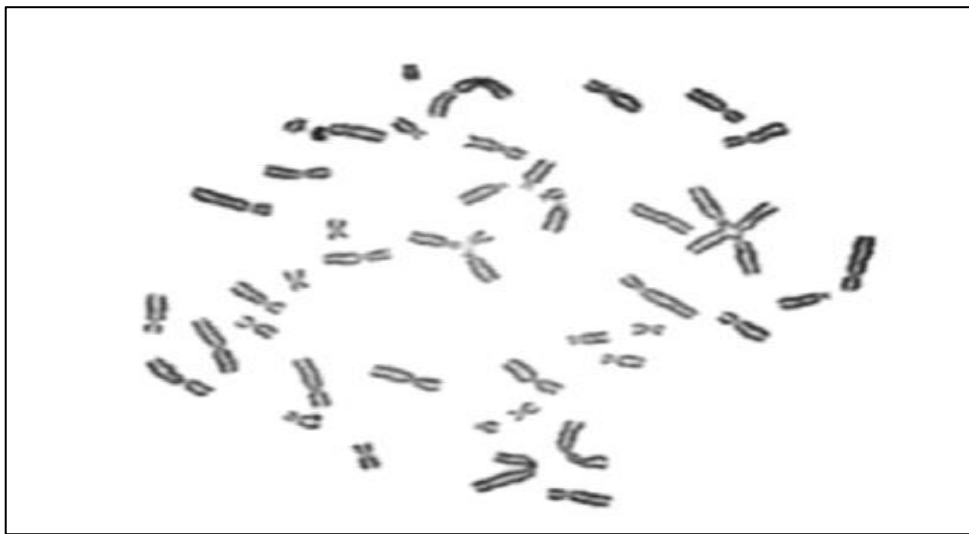


Figure32 : Étalement métaphasique sur lequel apparaît un échange chromatidique symétrique<sup>[32]</sup>.

#### IV.4.6. Échanges symétriques et asymétriques

Il existe deux types d'échanges entre bras (symétriques ou asymétriques), mais, lors d'une analyse de cellules en métaphase, on ne peut observer que les échanges asymétriques, et ce, grâce à l'appariement somatique<sup>[32]</sup>.

#### IV.4.7. Chromosomes triradiaux

Un chromosome triradial à trois bras, peut être décrit comme l'interaction entre un chromosome qui a subi une délétion isochromatidique et un deuxième chromosome qui, lui, a subi une délétion chromatidique<sup>[32]</sup>.

V. EFFETS AU NIVEAU DE LA CELLULE IRRADIEE

On parle ici de radiosensibilité intrinsèque c'est la sensibilité de la cellule elle-même, pour la différencier de la souffrance que pourrait avoir une cellule relativement radiorésistante, du fait de l'atteinte du tissu environnant, vasculaire en particulier, plus radiosensible <sup>[26, 30]</sup> (Figure 33).

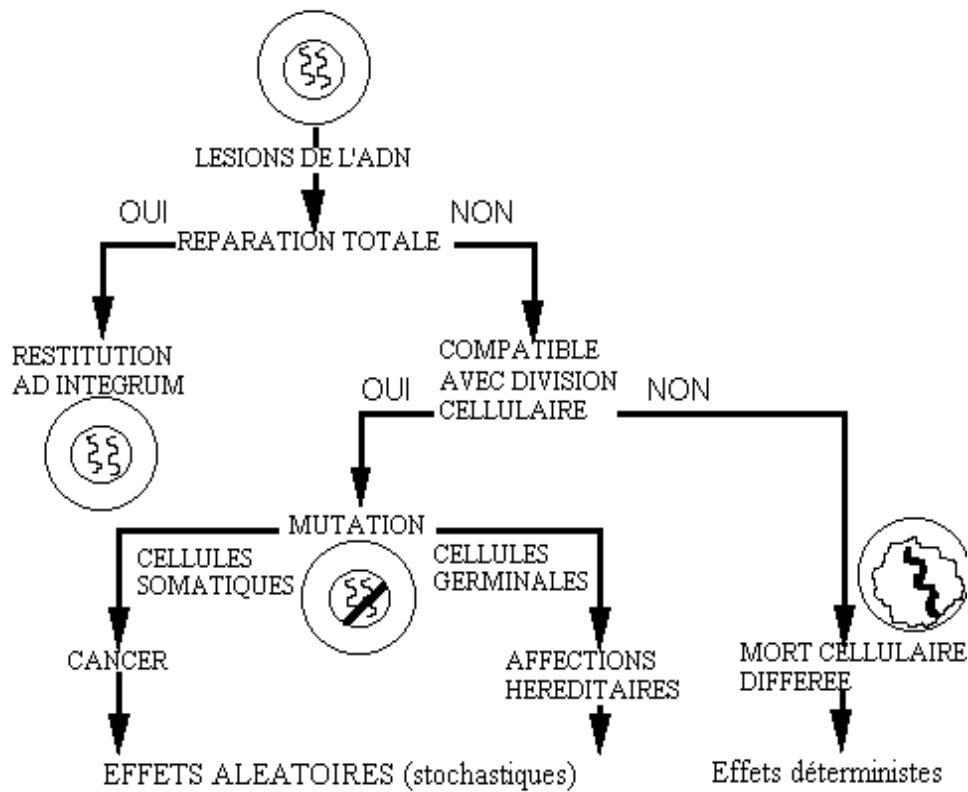


Figure 33: Effets au niveau de la cellule irradiée<sup>[30]</sup>.

V.1.Mort cellulaire, apoptose radio-induite

Lorsque nous irradiions une population de cellules, nous observons un certain nombre de décès cellulaires immédiats ou retardés.

La mort immédiate s'observe pour des doses élevées et la mort différée pour des doses faibles après quelques troubles consécutifs<sup>[26]</sup>.

L'irradiation donne naissance à plusieurs générations de cellules semblant présenter une activité métabolique normale, mais qui disparaissent toutes lors d'un échec de division au cours des 7 ou 8 mitoses suivant l'irradiation<sup>[27, 30]</sup>.

La cellule a perdu sa capacité potentielle de reproduction indéfinie, ce mécanisme s'appelle la Mort Cellulaire.

La mort cellulaire se manifeste par diverses modifications :

- une Pycnose ou rétraction noyau ;
- une Caryolyse avec disparition de la chromatine et du noyau ;
- une Coagulation protoplasmique irréversible ;
- une Caryoréxie ou éclatement et dispersion des débris du noyau dans cellule ;
- une Cytolyse, liquéfaction avec gonflement puis éclatement et disparition de la cellule<sup>[26-29]</sup>.

### **V.2. Altérations des fonctions cellulaires**

Elles interviennent pour des doses absorbées plus faibles que celles qui provoquent la mort cellulaire. Elles portent sur :

- la perméabilité cellulaire, celle-ci peut être accrue ou diminuée ;
- la mobilité cellulaire, en général diminuée ;
- la synthèse de l'ARN et des protéines, aussi diminuée ;
- le cycle mitotique ; la mitose peut être retardée ou arrêtée ;
- la croissance cellulaire, en général retardée<sup>[26, 27, 29]</sup>.



## VI. CONSÉQUENCE D'UNE IRRADIATION SUR UNE POPULATION CELLULAIRE

### VI.1. Courbes de survie cellulaire

La survie ou la mort d'une population cellulaire en fonction de la dose peut se décrire par l'intermédiaire de courbes de survie, où le taux de survie (S) est la proportion de cellules survivantes<sup>[26]</sup>.

On obtient ainsi deux allures de courbes de survie :

- exponentielles,
- avec épaulement <sup>[5, 26]</sup>.

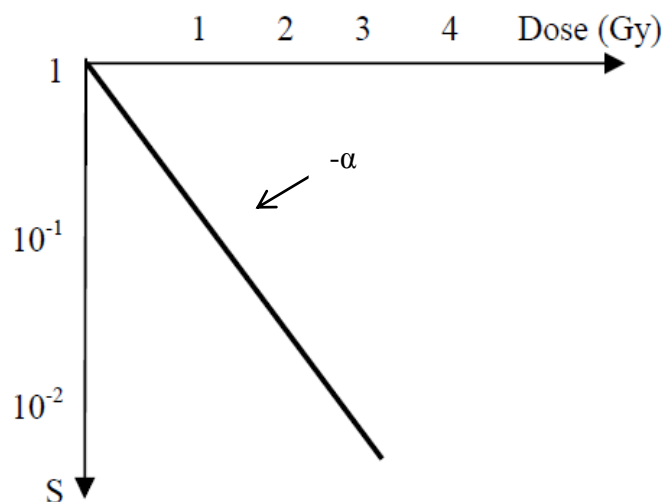
#### VI.1.1. Courbes de survie exponentielles

Cette relation est observée dans les organismes simples (virus, bactéries, levures...) et pour quelques types de cellules de mammifères comme les cellules hématopoïétiques, cellules irradiées par rayonnements à TLE élevé<sup>[5, 26]</sup> (**Figure 34**).

La relation est de la forme :

$$S = e^{-\alpha D}$$

$\alpha$  : est un coefficient représentant la pente de la courbe (en coordonnées semi-log).



**Figure 34: Courbe de survie exponentielle<sup>[26]</sup>.**

Ce modèle signifie que la mort cellulaire est ici un phénomène de tout ou rien. Une seule atteinte est nécessaire et suffisante. Les cellules sont soit mortes soit intactes et il n'y a pas de réparation cellulaire possible<sup>[26]</sup>.

VI.1.2. Courbes de survie avec épaulement

Ce type de courbe décrit la survie de la plupart des cellules de mammifères (**Figure 35**) avec:

- une pente à l'origine négative ( $-\alpha$ ),
- une partie initiale plus convexe, l'épaulement,
- une partie distale qui tend à se linéariser.

Diverses fonctions ont été proposées pour décrire ces courbes. Les plus satisfaisantes à l'heure actuelle sont les fonctions linéaires quadratiques, de la forme<sup>[26]</sup> :

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

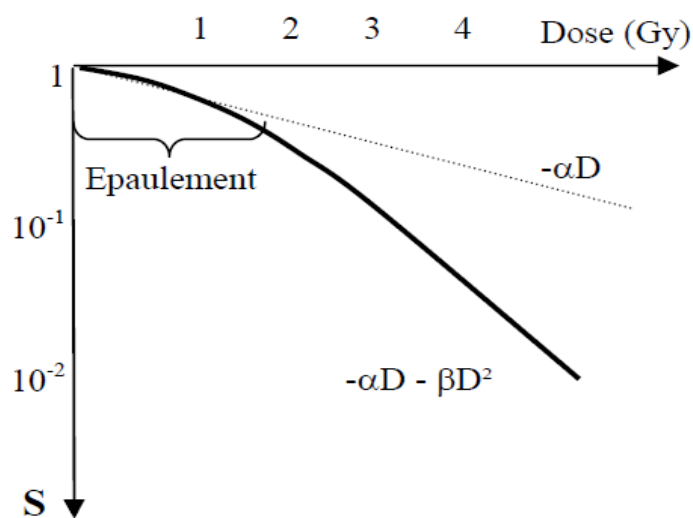


Figure 35 : Courbe de survie avec épaulement<sup>[26]</sup>.

Les courbes avec épaulement sont considérées comme issues de 2 composantes et font admettre que les cellules peuvent être tuées de deux façons :

- par atteinte d'une cible létale d'emblée, comme dans le cas précédent. Ces atteintes sont représentées par la pente initiale ( $-\alpha$ ) de la courbe,
- par une accumulation d'atteintes de cibles non suffisantes individuellement pour entraîner la mort cellulaire. Pour une composante quadratique, on admet qu'il existe une cible cellulaire qui doit être atteinte deux fois de façon quasi-concomitante pour interdire tout processus de réparation entre les deux événements, ou que la cellule contient deux cibles qui doivent être toutes deux atteintes pour que la cellule meure<sup>[26]</sup>.

### VI.1.3. Modèle de réparation cellulaire

Dans ce modèle, et pour les courbes à épaulement, l'irradiation entraîne des événements qui peuvent être létaux, mais aussi être réparés rapidement. La capacité de réparation cellulaire diminue quand la dose augmente, par saturation des mécanismes face au nombre d'événements.

La pente initiale de la courbe (**Figure 36**) s'explique par l'existence de lésions non réparables:

- l'épaulement s'explique par la baisse progressive de la capacité de réparation par saturation des mécanismes,
- la partie distale, linéarisée, correspond à la mort cellulaire pour chaque nouvel événement <sup>[26]</sup>.

La courbe est alors parallèle à la courbe "s'il n'y avait pas de réparation". Les mécanismes de réparation sont alors au maximum de leur capacité <sup>[26]</sup>.

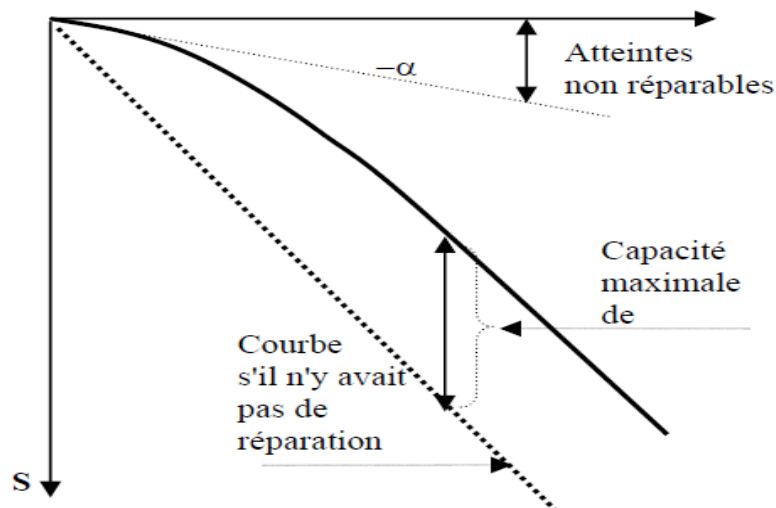


Figure36 : Modèle de réparation cellulaire <sup>[26]</sup>.

### VI.1.4. Lésions cellulaires létales ou sub-létales

Le support physique des irradiations ionisantes est représenté par les lésions moléculaires puis cellulaires dont on distingue deux grands types <sup>[26]</sup>:

- **lésions létales d'emblée** ; elles ne sont pas réparables et provoquent la mort cellulaire d'office <sup>[26]</sup>,
- **lésions sublétales** ; elles ne sont pas fatales individuellement mais ne le deviennent que si plusieurs coexistent ou si elles le deviennent par leur accumulation. Sinon, elles sont réparables. Cela signifie que la létalité est liée à leur accumulation rapide dans le temps et l'espace, prenant de court ou saturant les mécanismes de réparation. Une telle concentration est une fonction directe de la dose et du débit de dose <sup>[26]</sup>.

### VII. APPLICATION DE LA DOSIMETRIE BIOLOGIQUE

La dosimétrie biologique est une discipline qui permet de déterminer la dose d'irradiation ionisante reçue par un individu (naturelle, accidentelle, professionnelle...) à partir de paramètres biologiques. Elle repose sur l'analyse des chromosomes dicentriques, qui sont considérés comme de véritables bio-indicateurs, car ils sont très rares à l'état naturel<sup>[33]</sup>.

#### VII.1. Dosimétrie cytogénétique

La dosimétrie cytogénétique est basée sur l'analyse des caryotypes des lymphocytes circulants. Elle s'appuie sur le dénombrement des aberrations chromosomiques radio-induites. La fréquence de ces anomalies est liée à :

- la nature de la source d'irradiation ;
- la durée de l'exposition ;
- le débit de dose<sup>[33]</sup>.

#### VII.2. Dosimétrie moléculaire

Les techniques moléculaires développées récemment permettent la quantification directe des modifications de la structure d'ADN, sans passer par la culture cellulaire. Cette méthode peut être utilisée avec des tissus autres que le sang, notamment la peau qui est l'organe le plus exposé aux RI.

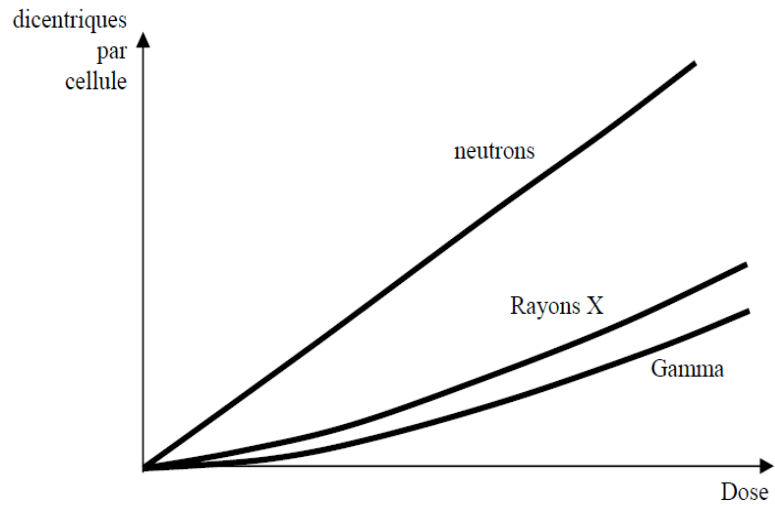
Les cassures doubles brins, très fréquentes suite à une irradiation, sont détectées par Immuno-Histo-Chimie en utilisant les anticorps dirigés contre le foyer du système de réparation, un complexe des protéines formé autour de la double cassure d'ADN. Ces foyers apparaissent quelques minutes après l'irradiation et sont détectables pendant plusieurs heures. Leur nombre est proportionnel à la dose absorbée<sup>[34]</sup>.

#### VII.3. Relation « dose-effet »

Le nombre de remaniements chromosomiques dans une population cellulaire irradiée est proportionnel à la dose. La forme de cette relation "dose-effet" dépend de la qualité du flux de rayonnements incidents, en particulier de son TLE (**Figure 37**).

Schématiquement, on retient :

- pour un TLE élevé spécifique aux neutrons : la relation "dose-effet" est linéaire ;
- pour un TLE faible spécifique aux rayons X et  $\gamma$  : la relation est linéaire quadratique<sup>[38,39]</sup>.



**Figure 37: Relation entre le taux de chromosomes dicentriques produits dans des lymphocytes humains et la dose absorbée<sup>[26]</sup>.**

### VIII. TECHNIQUES DU CARYOTYPE

La reconnaissance individuelle des chromosomes humains qui reposait sur leur longueur relative et la position du centromère n'était pas possible pour tous les chromosomes avec les premières techniques utilisées<sup>[40]</sup>.

L'introduction des techniques de bandes chromosomiques, puis des techniques d'hybridation in situ a permis un développement considérable de la cytogénétique dont les principales implications dans la recherche fondamentale et médicale<sup>[40]</sup>.

#### VIII.1. Hybridation Fluorescente In Situ

Le développement de l'Hybridation Fluorescente In Situ (FISH)<sup>[41]</sup> a donné aussi la possibilité de détecter les aberrations par les moyens alternatifs. Cette technique révèle aussi les autres complexes d'échanges chromosomiques<sup>[42]</sup>, dont les translocations sont considérées comme des altérations chromosomiques permanentes dans le temps<sup>[43-48]</sup>.

La technique FISH a permis aussi la détection rapide des dicentriques et les translocations en même temps, en utilisant des sondes spécifiques de ces chromosomes<sup>[42]</sup>. Néanmoins, il arrive que la détection, impliquant un ou plusieurs changements chromosomiques, reste non évidente à visualiser<sup>[43]</sup>.

Les échanges, concernant des fragments de longueurs inférieures à la limite de la résolution de la technique, sont indétectables<sup>[49,50]</sup>. Ces aberrations sont classées comme un échange incomplet<sup>[51]</sup>.

La détection, qui donne des indications précises sur de vrais échanges incomplets, peut être faite par des sondes télomériques<sup>[52]</sup>. Cependant, le développement de la technique MultiFluorochrome (M-FISH), dont les paires chromosomiques sont colorées avec des fluorochromes différents<sup>[43]</sup> a la grande capacité de détecter les aberrations complexes<sup>[54,55]</sup>.

Une autre technique de cytogénétique nommée Condensation Prématurée des Chromosomes (PCC), a permis de dépasser les limites de la technique conventionnelle basée sur l'analyse des dicentriques.

La technique PCC induit la condensation de la chromatine même quand la cellule n'est pas en mitose, en bloquant des cellules en différents stades de la division cellulaire comme les lymphocytes humains du sang périphérique<sup>[53]</sup>.

### VIII.2. Condensation Prématurée des Chromosomes (PCC)

La PCC est une technique, qui permet d'induire la condensation de la chromatine quand la cellule n'est pas en mitose. Cette dernière peut être provoquée, en bloquant en interphase « G0 » des cellules telles que les lymphocytes humains du sang périphérique (**Figure 38**).



**Figure 38: Condensation prématurée des chromosomes induite par la fusion d'un lymphocyte humain non irradié et d'une cellule CHO en mitose à l'aide de PEG <sup>[32]</sup>.**

La PCC, appliquée sur des lymphocytes du sang périphérique avec coloration uniforme, est devenue une méthode attrayante et rapide pour la dosimétrie biologique. Elle présente une application particulièrement pour les expositions à de fortes doses cliniques <sup>[56,57]</sup>. Comme elle combine efficacement la condensation prématurée des chromosomes, induite par l'acide Okadaïque ou la calyculine A et la coloration uniforme au leishman (Giemsa) <sup>[58]</sup>.

Cette technique introduite par Johnson et Rao <sup>[59]</sup> permet l'évaluation des dégâts chromatidiques en interphase. Pantelias et Maillie ont été les premiers à appliquer cette technique dans la dosimétrie biologique, sur des lymphocytes isolés à partir de sang périphérique <sup>[60]</sup>.

La PCC est une méthode qui peut résoudre trois problèmes majeurs de la dosimétrie biologique conventionnelle, basée sur l'analyse des dicentriques :

- la lymphopénie due à la mort cellulaire, réduisant le nombre des lymphocytes disponibles.
- la réduction du taux des métaphases due au cycle cellulaire radio induit.
- la saturation de la production des dicentriques à une dose élevée, qui a pour conséquences la réduction de l'index mitotique, et donc la réduction de la précision d'estimation de la dose.

En effet, le nombre de cellules nécessaire, pour avoir une signification statistique, est basé sur l'analyse d'au moins 100 métaphases, un résultat très difficile à obtenir à une dose élevée.

L'augmentation des doses et du pourcentage des dicentriques devient non précise au-delà d'un certain seuil <sup>[60]</sup>. Par contre, la PCC reste efficace dans le cas où les cellules sont exposées in vitro à des doses élevées atteignant 40 Gy <sup>[61]</sup>.

La PCC peut aussi être induite par le Poly-Ethylène Glycol (PEG), qui aide à la fusion mitotique en analysant les cellules en interphase, ou comme il a été démontré récemment <sup>[60,61]</sup> par les inhibiteurs de la phosphatase (Acide Okadaïque ou la Calyculine A). La PCC est utilisée aussi pour définir facilement le stade du cycle cellulaire des lymphocytes au moment de leur traitement.

Elle a également la capacité de détecter les aberrations radio-induites dans plus de 20% des cellules en interphase, contrairement à la méthode de culture classique de 48h basée sur un traitement à la colcemid (colchicine) <sup>[62]</sup> et qui permet cette détection dans seulement 3% des cellules.

Néanmoins, cette technique est particulièrement utilisée pour déterminer les conséquences des doses d'irradiations de basse énergie et de haut TEL. Ce dernier est défini comme l'énergie moyenne, déposée sur la longueur de l'itinéraire d'un RI par unité de longueur. Une autre application de la PCC, c'est qu'elle permet aussi de distinguer entre une exposition totale et une exposition partielle de l'individu <sup>[53, 49]</sup>.

Par conséquent, la recherche des protocoles simples et rapides est nécessaire pour la mise au point de ses techniques dans plusieurs laboratoires <sup>[64]</sup>.

### VIII.3. Micronoyaux

Le test de micronoyaux (MN) est pratiqué in vivo chez des mammifères ; en vue de détecter les dommages des chromosomes et identifier des substances liquide ou solide, qui causent des lésions cytogénétiques. Il est basé sur l'analyse d'érythrocytes prélevés dans la moelle osseuse et/ou dans les cellules du sang périphérique d'animaux, généralement des rongeurs.

Le test des MN a été proposé par Countryman et Heddle <sup>[65]</sup>, pour détecter les dommages génétiques chimio- ou radio-induits. Ce test est basé sur la numération d'entités nucléaires <sup>[66]</sup>.

Les MN sont constituées de fragments chromosomiques ou de chromosomes entiers, qui sont en retard lors de l'anaphase et qui ne font pas partie du noyau des cellules filles (**Figures 39; 40**).



Ils ont ainsi l'apparence de petits objets sphériques bien distincts, qui ont la même morphologie et les mêmes propriétés de coloration que le noyau à l'intérieur du cytoplasme des cellules filles [65].

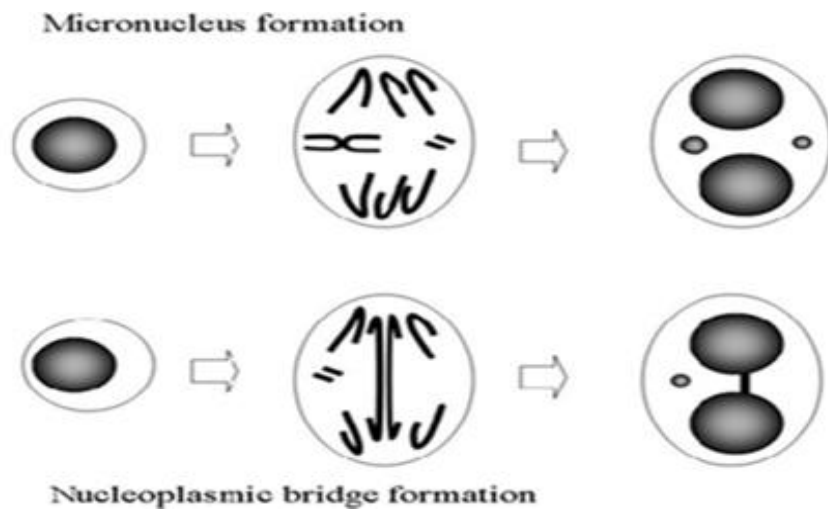


Figure 39 : Mécanisme de formation des micronoyaux et des ponts nucléoplasmiques lors d'une analyse des micronoyaux par blocage de la cytokinèse<sup>[32]</sup>.

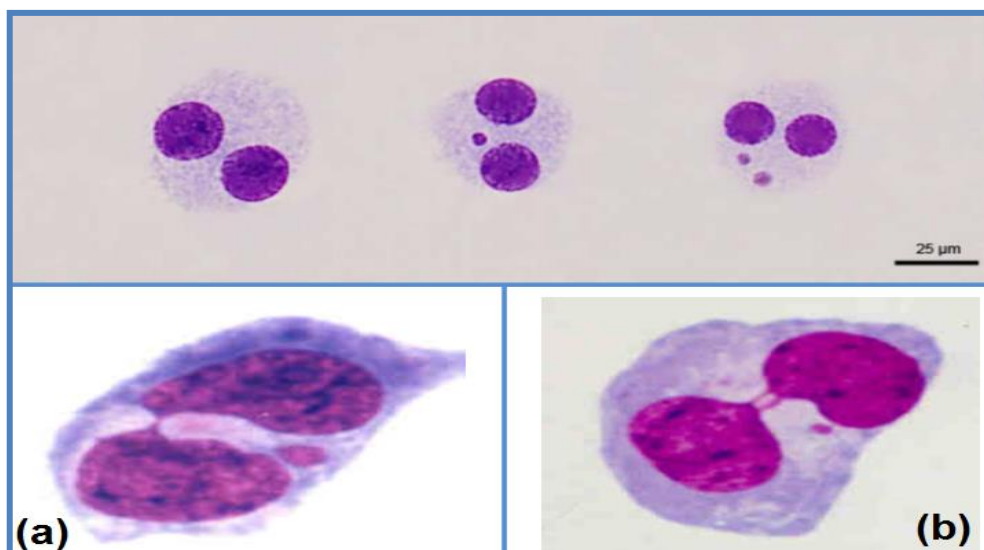


Figure 40: (a) Cellule binucléée sans micronoyaux et comportant un ou deux micronoyaux. (b) Cellule binucléée comportant un ou deux ponts nucléoplasmiques. Dans, chaque cas, celui-ci est accompagné d'un micronoyau.

Les méthodes des MN présentaient toutefois des limites, par exemple une imprécision relativement élevée concernant la classification des cellules binucléées. À une période plus récente, des dispositifs d'analyse automatique d'images pour le test CBMN (Cytokinesis-Block MicroNucleus cytochrome assay) nouveaux et plus performants ont été développés.

Le module logiciel MN intégré au détecteur de cellules en métaphase MSearch, mis au point et commercialisé par Metasystems (fabricant de dispositifs d'imagerie microscopique), reconnaît automatiquement les cellules binucléées par des critères morphologiques, à savoir la présence de deux noyaux adjacents colorés de la même manière au DiAmidino-4,6 Phényl-2 Indole (DAPI).

Dans une deuxième étape, il compte automatiquement les MN dans une zone circulaire définie autour des deux noyaux de la cellule binucléée avec cette technique, il est donc possible de distinguer les cellules prolifératives (après la première mitose) et les cellules non prolifératives, et de compter spécifiquement les MN dans les cellules capables d'en former, c'est-à-dire les cellules binucléées.

### I. INTRODUCTION

La dosimétrie biologique repose principalement sur l'estimation d'une dose d'irradiation, reçue par un individu précédemment exposé aux RI et évaluée à travers les aberrations et les remaniements chromosomiques instables, spécialement les chromosomes dicentriques, analysés dans les lymphocytes circulants.

Le caryotype est une technique qui permet l'étude des chromosomes d'un individu. Cette technique permet d'obtenir une image en MO, des chromosomes d'une cellule au cours de la métaphase ou de la prométaphase de la mitose. En génétique médicale, le caryotype contribue à la mise en évidence de remaniements chromosomiques.

Notre étude a été réalisée grâce aux travaux de recherche de Mme A. MESSAL, biologiste à l'Université d'Oran, qui reposent sur la réalisation d'une courbe de calibrage Dose/Effet dans le but de l'utiliser à l'avenir dans un laboratoire algérien.

Nous avons utilisé des lames préalablement préparées, suite à un prélèvement de sang périphérique d'un donneur sain d'origine algérienne, sans antécédent d'expositions aux RI. Les préparations chromosomiques ont été réalisées au sein du Département de Biologie (Animale, Végétale et d'Écologie) de la Faculté des Sciences de l'Université Autonome de Barcelone, Espagne.

L'observation des lames a été faite au niveau du Laboratoire de Cytogénétique, Département de Génétique Moléculaire Appliquée (GMA, USTO, Oran).

Il s'agissait de lames préparées selon un protocole recommandé par l'AIEA<sup>[4]</sup> qui combine l'utilisation de BrdU (BromodésoxyUridine) et la coloration uniforme au Giemsa sur des lymphocytes de sang périphérique.

### II. OBJECTIFS

L'objectif principal est l'identification des aberrations chromosomiques radio-induites par l'analyse des étalements préalablement effectués au niveau du Laboratoire de Génétique Moléculaire Appliqué (GMA, USTO, Oran).

L'objectif secondaire portera sur l'évaluation d'une éventuelle dose d'irradiation et servira par la suite à l'identification des personnes irradiées.

### **III. MATÉRIELS**

#### **III.1. Appareil d'irradiation**

L'irradiation des échantillons aux rayonnements  $\gamma$  a été réalisée in vitro dans des tubes sans addition de milieu de culture, grâce à un irradiateur de type IBL437C de CIS Bio-international, contenant une source de Cobalt-60.



**Figure 41 : Irradiateur de rayons  $\gamma$  (CIS, Bio-international).**

#### **III.2. Flacons de culture servant à l'irradiation**

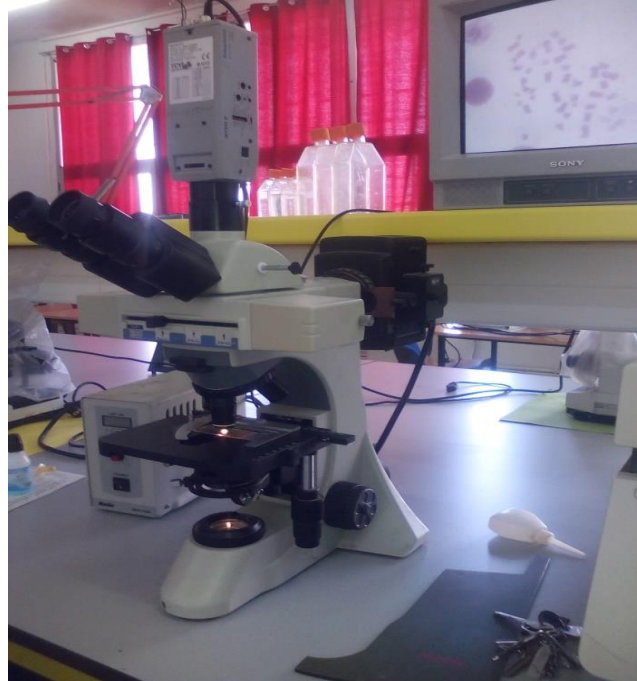
Des flacons T25 classique.



**Figure 42 : flacons T25 classique.**

### **III.3. Microscope optique**

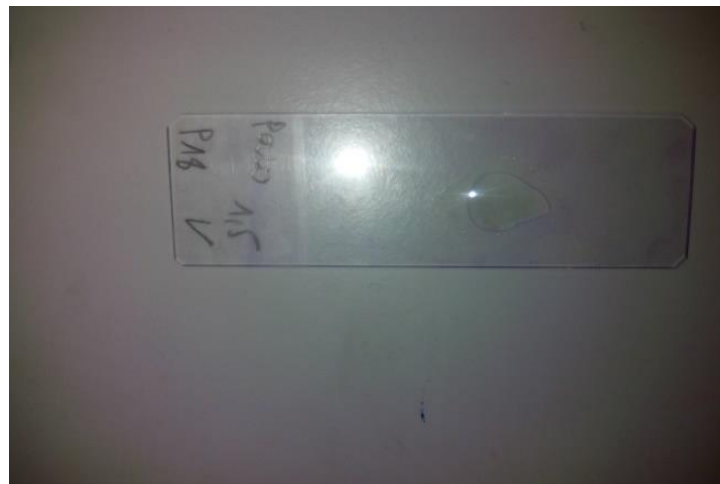
Les photographies illustrées dans ce mémoire, ont été prises à l'aide d'un appareil photographique relié au MO avec lequel nous avons réalisé l'analyse cytogénétique.



**Figure 43 : Microscope optique (Laboratoire GMA, Oran).**

### **III.4. Lames analysées**

Les lames ont été préparées selon le protocole recommandé par l'AIEA<sup>[4]</sup> qui combine l'utilisation de BrdU (BromodésoxyUridine) et la coloration uniforme au Giemsa sur des lymphocytes de sang périphérique.



**Figure 44 : Lame analysée irradié à une dose de 1,5 Gy.**

### IV. MÉTHODES

Comme précédemment décrit, nous nous sommes inspirés des méthodes de recherche de Mme A. Messal, qui reposent sur la réalisation d'une courbe de calibrage Dose/Effet.

Les échantillons ont été irradiés in vitro à des doses de 1,5 Gy et de 5 Gy, cultivés à 37 °C pendant 48h, puis bloqués au stade de métaphase de la 1<sup>ère</sup> division cellulaire. L'introduction du BrdU dans la culture nous permet de distinguer entre la 1<sup>ère</sup> et la 2<sup>ème</sup> division cellulaire.

La première dose (1,5 Gy) est considérée comme la limite supérieure des faibles doses, elle a été choisie par rapport à son effet cytogénétique qui génère des aberrations chromosomiques différentes, mais moins fréquentes que celles induites par les fortes doses de plus de 1,5 Gy.

Pour la deuxième dose (5 Gy) considérée comme étant forte, génère des aberrations chromosomiques différentes, fréquentes et assez importantes.

Par ailleurs, les résultats cytogénétiques obtenus seront interprétés et analysés à l'aide d'outils statistiques et serviront par la suite à confirmer les données requises et de les faire valider.

#### IV.1. Prélèvement sanguin

Un prélèvement de sang veineux périphérique d'un donneur sain de sexe féminin âgé de 30 ans d'origine algérienne, sans antécédent à l'exposition aux RI. Le sang est recueilli sur des tubes stériles contenant de l'héparinate de lithium, le plus souvent utilisé pour réaliser un caryotype constitutionnel.

#### IV.2. L'irradiation

Les tubes préalablement codés ont été exposés à différentes doses de rayonnements  $\gamma$ , à raison de 1,5 et 5 Gy. Les débits de doses variaient de 107 à 117,5 cGy/minute.

#### IV.3. Étape de culture cellulaire

Le sang total est incubé 48 dans un milieu de culture contenant une lectine à fort pouvoir mitogène (PhytoHémAgglutinine ou PHA) permettant une stimulation de la croissance des lymphocytes T.

On ajoute par la suite 0,5 ml de sang dans un tube à un milieu de culture approprié (RPMI 1640), additionné d'un agent mitogène, la PHA, de plusieurs antibiotiques et de 10% de sérum de veau fœtal (SVF) (Life Technology).

Les cultures sont effectuées le jour même, en double. Par ailleurs, des cultures supplémentaires sont effectuées le lendemain, pour d'éventuels problèmes de contamination, de mauvaises manipulations ou de conditions de culture.

#### IV.4. L'ajout du BromodésoxyUridine

Il convient d'ajouter de la Bromodésoxyuridine (BrdU) aux cultures afin de pouvoir utiliser la technique de Fluorescence Plus Giemsa (FPG). Cet analogue de la thymidine est sélectionné de préférence pour la réplication de l'ADN. Lorsqu'il y a substitution des deux brins d'une chromatide et d'un seul brin de l'autre, la FPG fait apparaître un effet « arlequin » sur des chromosomes métaphasiques de cellules qui ont subi deux divisions ou plus après la substitution.

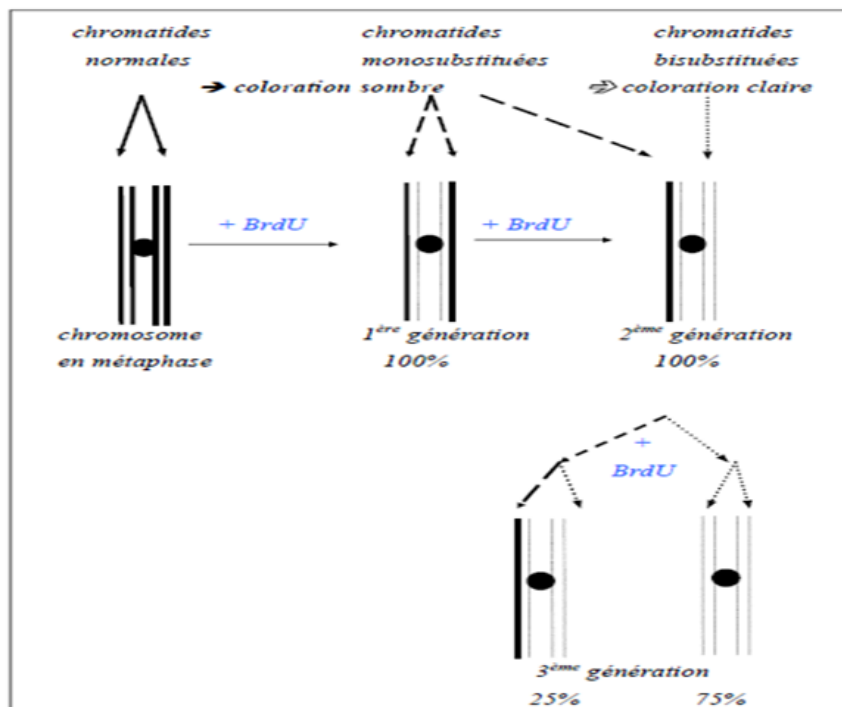


Figure 45: Schéma du marquage de la chromatine par l'ajout du BrdU.

Après 46 heures de culture à 37 °C, un inhibiteur mitotique, la démécoldine (Sigma), est ajouté dans les tubes, et les cultures prolongées de 2 à 3 heures. Les lymphocytes sont séparés par centrifugation, et un choc hypotonique au KCl (0,075 M) est pratiqué pour lyser les hématies et faire gonfler les lymphocytes.

Après centrifugation, les cellules sont fixées par addition de méthanol/acide acétique. Les métaphases sont étalées par projection sur des lames de microscope propres et humides.

### IV.5. Coloration classique au Giemsa

Les lames doivent être immergées dans du colorant de Giemsa à 2% (Gurr R66 amélioré) tamponné au phosphate à un pH de 6,8 pendant 5 minutes, lavées au tampon, rapidement rincées à l'eau distillée, mises à sécher et enfin placées sous une lamelle à l'aide d'un milieu de montage.

### IV.6. Analyse cytogénétique

L'analyse cytogénétique repose sur l'étude de la morphologie des chromosomes au stade de la métaphase de la première mitose qui a suivi l'irradiation réalisée au stade G0.

Cette culture cellulaire avait été réalisée en présence de BrdU et les lames colorées au Giemsa. Les préparations chromosomiques ont été examinées au MO d'abord à faible grossissement (10 fois) pour la mise au point puis à fort grossissement (100 fois) ; les chromosomes dicentriques ainsi que les chromosomes en anneaux ont été recherchés en premier car considérés comme étant les meilleurs bio-indicateurs d'irradiation.

### IV.7. Critères d'analyses des préparations chromosomiques

L'analyse cytogénétique des métaphases des lames préparées, présentant des altérations chromosomiques est fondée sur l'application des critères suivants :

- les chromosomes étudiés doivent indispensablement être issus des métaphases de la première division cellulaire et qui contiennent 46 centromères
- le chromosome est considéré comme étant dicentrique que lorsqu'il y a la présence de fragment acentrique
- le chromosome transloqué est reconnu soit par une comparaison avec son chromosome homologue ou avec les autres chromosomes du génome
- quand la taille de la région non colorée dans le chromosome est inférieure à la largeur de la chromatide, il est classé comme « gaps »; alors que, quand la région non colorée est supérieure à la largeur de la chromatide touchant ainsi une seule chromatide il est classé comme « break ».

## V. TYPE DE L'ÉTUDE

C'est une étude descriptive, réalisée sur des lames préalablement préparées, afin d'identifier les aberrations chromosomiques radio-induites.



## VI. TAILLE DE L'ÉCHANTILLON

L'analyse a porté sur 120 lames, sur lesquelles la recherche et le décompte a concerné plus de 400 métaphases. Parmi elles, 60 lames ont été irradiées pour une dose de 1,5 Gy, 50 lames pour une dose de 5 Gy et enfin 10 lames n'ont subies aucune irradiation (0 Gy).

## VII. ANALYSE STATISTIQUE

Les résultats cytogénétiques obtenus ont été étudiés par différentes méthodes statistiques, à savoir qu'actuellement, la méthode d'analyse la plus adaptée en dosimétrie biologique est celle des tests de Poisson et de Popworth, dont le but est de vérifier l'homogénéité de l'irradiation au niveau de nos échantillons. Par ailleurs, ces tests sont recommandés par l'AIEA<sup>[4]</sup>.

### VII.1. Distribution de Poisson et conditions d'application

La distribution de Poisson décrit essentiellement des traçabilités pour lesquelles la probabilité d'observer un évènement est petite mais le nombre d'essais est plus grand. Dans notre étude l'évènement étant principalement d'observer un remaniement exclusivement cytogénétique, en rapport avec des expositions d'irradiation différentes.

La distribution de Poisson s'applique également aux variables quantitatives discrètes définies par le nombre d'évènements observés dans le cas où ces évènements se produisent de manière indépendante et aléatoire dans le temps ou dans l'espace. Cette distribution est caractérisée par le seul paramètre  $\mu$  qui est la moyenne de la distribution, et ainsi la variance. Soit  $x$  une variable de Poisson où  $x$  correspond au comptage dans l'intervalle considéré. Elle se caractérise par  $\mu$ .

La détermination de la probabilité de la réalisation d'un évènement se fait selon les relations suivantes :

#### VII.1.1. Variance

$$P(X = x) = \frac{e^{-\mu} + \mu^x}{x!}$$

Le seul paramètre est  $\mu$  = le nombre moyen d'évènements.

Par exemple, lorsque la valeur  $\mu$  est connue, il est possible, par cette fonction, de calculer la probabilité de l'évènement mesuré.

La variance qui correspond à la moyenne  $\mu$ , peut-être calculée aussi par la formule suivante :

$$\text{Var}(X)(\text{Variance}) = \frac{\text{Cells 0 dic } (0 - x)^2 + \text{Cells 1 dic } (1 - x)^2 + \text{Cells 2 dic } (2 - x)^2 + \dots}{N - 1} = 0.1125$$

N = nombre total de cellules.

### VII.1.2. Fréquence

La fréquence ( $X$ ) = nombre de dicentriques pour une dose donnée par le nombre de cellules étudiées pour la même dose.

### VII.1.3. Index de dispersion

L'Index de Dispersion (**DI**), vérifie si la distribution des dicentriques pour chaque dose suit la distribution de Poisson. Afin de déterminer le type de distribution, on peut utiliser l'indice de dispersion ou l'indice de variance relative de Fisher [69], calculé de manière suivante :

$$\text{DI} = \frac{\text{Var}(X)}{x}$$

Ou :

$$\text{DI} = \frac{\sigma^2}{y}$$

Où :  $\sigma^2$  correspond à la variance et  $y$  à la moyenne.

Théoriquement, nous savons que dans la distribution de Poisson :

$$X = \text{Var}(X)$$

$$X = \text{var}(X) \rightarrow \text{Var}(X)/(X) = 1 = \text{DI}$$

### VII.1.4. Calcul de l'erreur standard

En pratique, il est à noter qu'il existe toujours des erreurs dans la mesure, **SE** (Standard Error) est l'erreur admise au cours de la mesure expérimentale. Dans notre étude, l'erreur est dans le dénombrement des dicentriques, tel que :

$$\text{se} = \sqrt{\frac{\text{Var}}{N}}$$

N = nombre total de cellules.

### VII.1.5. Définition du U de Papworth

U est calculé à partir d'une variable  $x$ , de la moyenne  $\mu$  et de l'écart type  $\sigma$  qui est égal à la racine carré de la variance. Quelle que soit la variable d'origine, la variable centrée U est autour de 0 et a pour écart type 1.

Nous aboutissons ainsi à une courbe dont 95% des valeurs sont comprises entre [-1,96 et +1,96].

Le calcul de la valeur U de Papworth, est réalisé selon la relation suivante :

$$U = \frac{([N - 1] \left[ \frac{\text{Var}(X)}{X} \right]) - (N - 1)}{2(N - 1) \left( 1 - \left[ \frac{1}{n} \right] \right)}$$

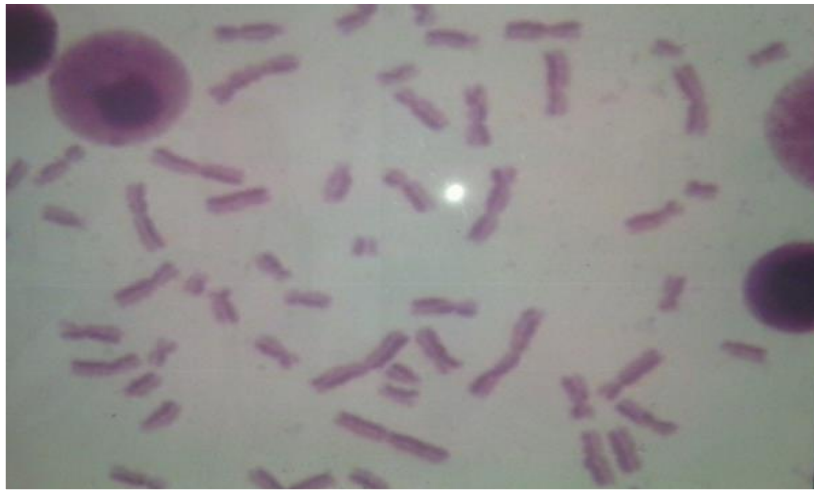
Si la valeur U calculée appartient à l'intervalle de confiance [-1,96 ; +1,96], alors la distribution des dicentriques suivra la distribution et la loi de Poisson. Nous en déduisons que les échantillons de sang ont été irradiés de manière homogène. À partir de là, nos résultats seront statistiquement validés et significatifs.

### I. RÉSULTATS

Ce travail a été réalisé en deux parties, à savoir une analyse cytogénétique de lames préalablement préparées et une étude statistique.

#### I.1. Aberrations de la deuxième division cellulaire

La présence du BrdU dans les cultures des préparations chromosomiques, nous a permis de distinguer entre les métaphases de la 1<sup>ère</sup> et de la 2<sup>ème</sup> division. En effet, les chromosomes des métaphases, issus de la 1<sup>ère</sup> division cellulaire sont colorés d'une manière uniforme, tandis que ceux issus de la 2<sup>ème</sup> ont un aspect arlequin et donc nous les avons exclus de l'étude pour diminuer le risque d'erreur qui est d'environ de 5% (**Figure 46**).



**Figure 46: Métaphase d'une culture cellulaire provenant de la 2<sup>ème</sup> division cellulaire. (Laboratoire GMA, USTO, Oran).**

Les bases ont la propriété, de s'altérer et de ne pas retenir la coloration au Giemsa, après traitement par la solution HOECHST (composée d'eau distillée et de Bis Benzamide) et par les rayons ultraviolets (UV) et infrarouges (IR). Cette coloration donne ainsi un aspect différentiel que nous appelons, l'effet « Arlequin », correspondant aux chromosomes en métaphase des cellules en seconde division. L'exposition aux rayonnements UV et IR, détruit partiellement les brins néo-synthétisés, et nous pouvons ainsi différencier les brins néo-synthétisés à chaque cycle cellulaire (**Figure 46**).

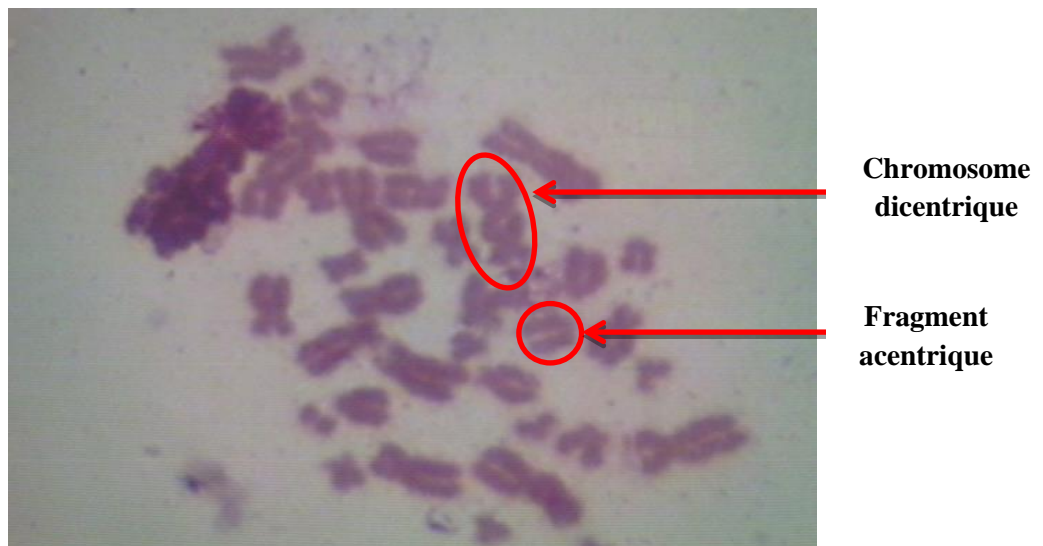
Les observations effectuées pendant cette étude, ont révélé la présence de nombreux remaniements chromosomiques radio-induits (acentriques, en anneaux « ring », polycentriques particulièrement les dicentriques en nombre important).

Nous avons exclu 10 métaphases de l'analyse qui ne répondaient pas aux critères cytogénétiques imposés, ainsi, nous en avons constaté :

- Huit (08) métaphases avec un nombre de centromère différents de quarante-six (46).
- Deux (02) métaphases étaient issues de la 2<sup>ème</sup> division cellulaire, révélées par leur coloration, représentent l'aspect arlequin.

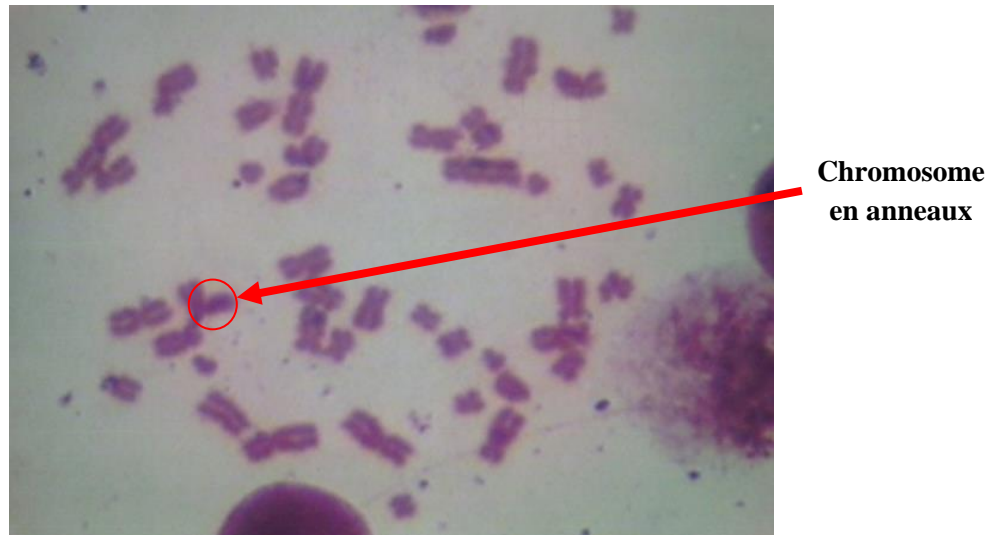
Dans les 50 métaphases pour la dose de **1,5 Gy** prises en considération pour l'étude, nous avons analysé des aberrations chromosomiques diverses, avec un nombre élevé de dicentriques accompagnant leurs fragments acentriques (**Figure 47**).

Aucun tricentrique ni quadricentrique n'a été observé, car ce type d'aberrations n'apparaît qu'à une dose supérieure à celle que nous l'avons utilisé.



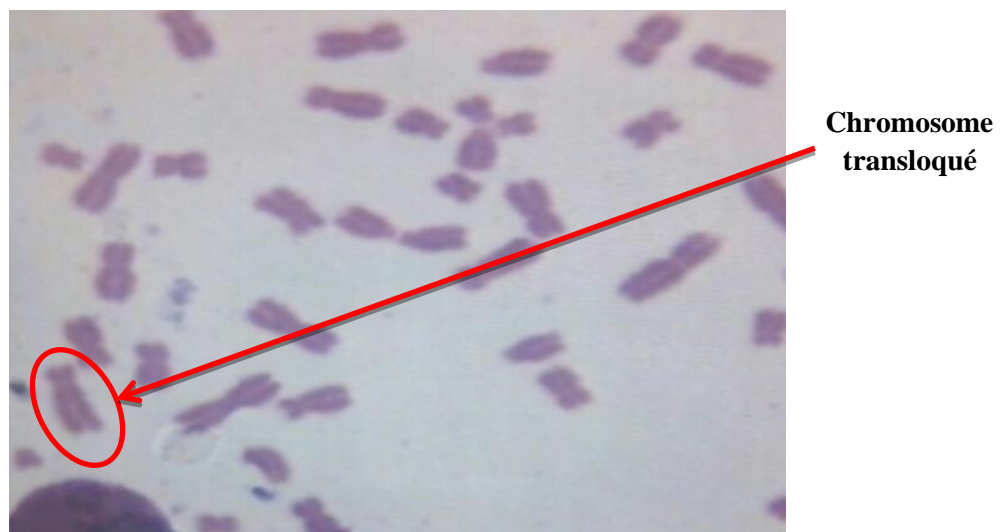
**Figure 47 : Métaphase faite sur un prélèvement irradié à une dose de 1,5 Gy de rayonnements  $\gamma$ , montrant un chromosome dicentrique et son fragment acentrique. (Laboratoire GMA, USTO, Oran).**

Concernant les autres aberrations chromosomiques mis à part les polycentriques, nous avons observé essentiellement des chromosomes en anneaux centriques, qui sont des chromosomes ayant perdu leurs télomères par délétion, suivie par un recollement avec perte des segments distaux (**Figure 48**).



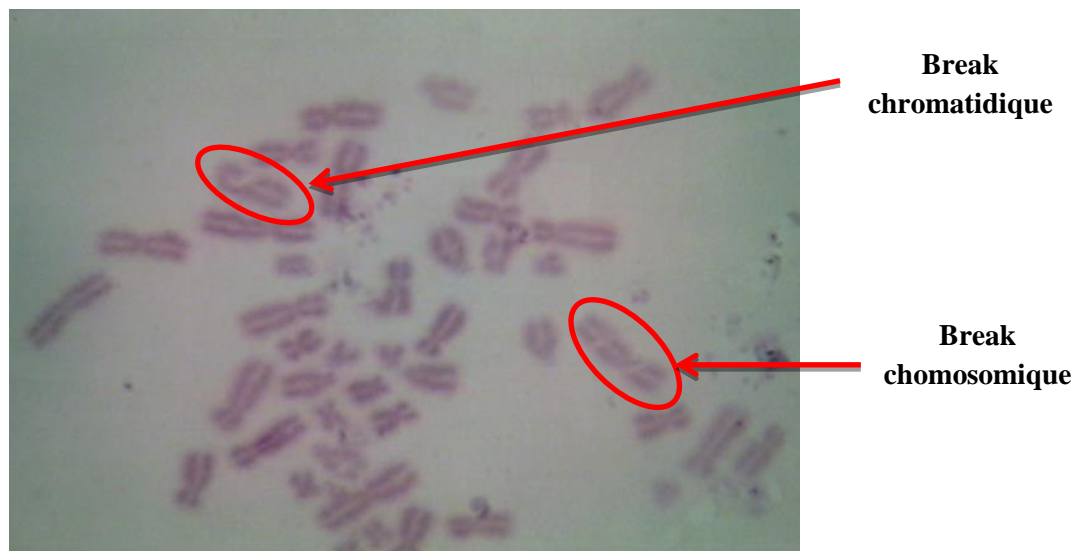
**Figure 48: Métaphase faite sur un prélèvement irradié à une dose de 1,5 Gy de rayonnements  $\gamma$ , montrant un chromosome en anneaux provenant de la 1<sup>ère</sup> division cellulaire. (laboratoire GMA, USTO).**

Des chromosomes transloqués ont aussi été mis en évidence, caractérisés par l'échange réciproque de matériel entre deux chromosomes non homologues après cassure sur chacun des chromosomes impliqués (**Figure 49**).



**Figure 49: Métaphase faite sur un prélèvement irradié par une dose de 1,5 Gy de rayonnements  $\gamma$ , montrant un chromosome transloqué issue de la 1<sup>ère</sup> division cellulaire. (Laboratoire GMA, USTO, Oran).**

Des cassures chromosomiques et chromatidiques ont également été révélées pendant l'analyse cytogénétique, dont 3 breaks et 7 gaps (**Figures 50; 51**).

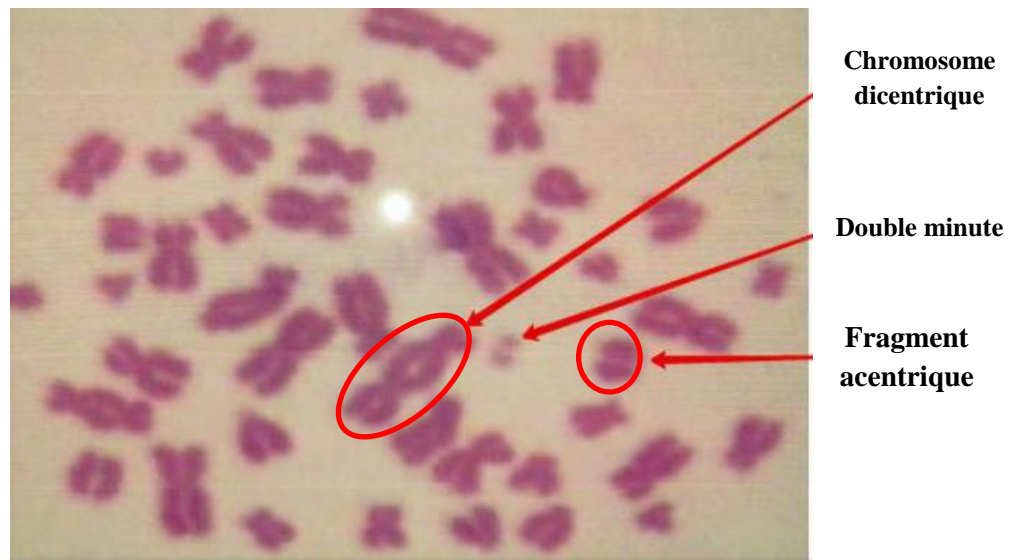


**Figure 50 : Métaphase faite sur un prélèvement irradié par une dose de 1,5 Gy de rayonnements  $\gamma$ , montrant un break chromatidique et chromosomique issue de la 1<sup>ère</sup> division cellulaire. (Laboratoire GMA, USTO, Oran).**



**Figure 51 : Métaphase faite sur un prélèvement irradié à une dose de 1,5 Gy de rayonnements  $\gamma$ , montrant un « Gap » issue de la 1<sup>ère</sup> division cellulaire. (Laboratoire GMA, USTO, Oran).**

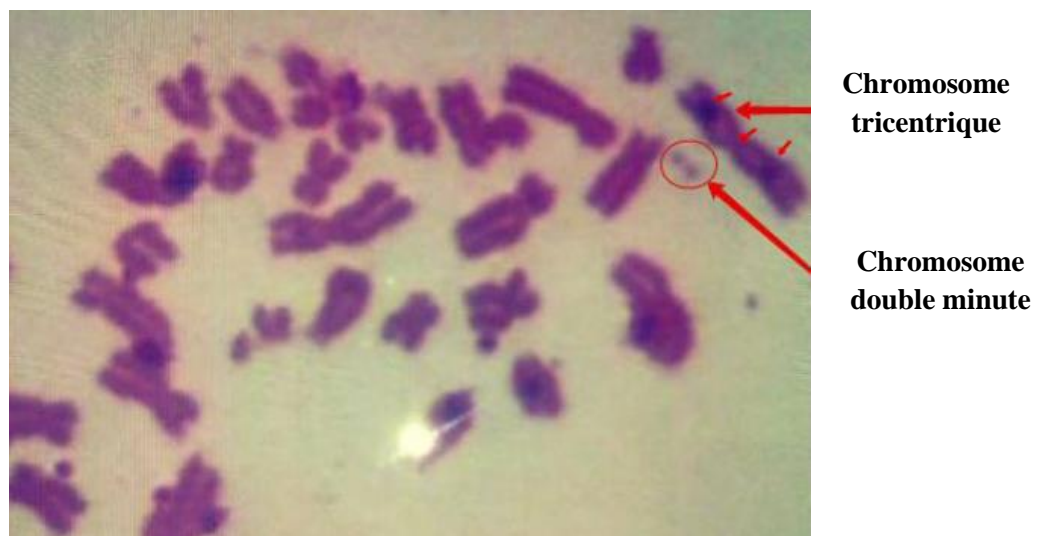
Les observations effectuées pour la dose **de 5 Gy**, ont révélé la présence de nombreux remaniements chromosomiques radio-induits, rappelons les chromosomes acentriques, les chromosomes en anneaux « ring », les polycentriques particulièrement les dicentriques en nombre important (**figure 52**).



**Figure 52 : Métaphase d'une culture cellulaire de sang périphérique, exposée aux rayonnements  $\gamma$  de 5 Gy, montrant les différentes aberrations de type instable tel que les dicentriques. (Laboratoire GMA, USTO, Oran).**

Nous avons remarqué aussi la présence des chromosomes tricentriques (**figure 53**).

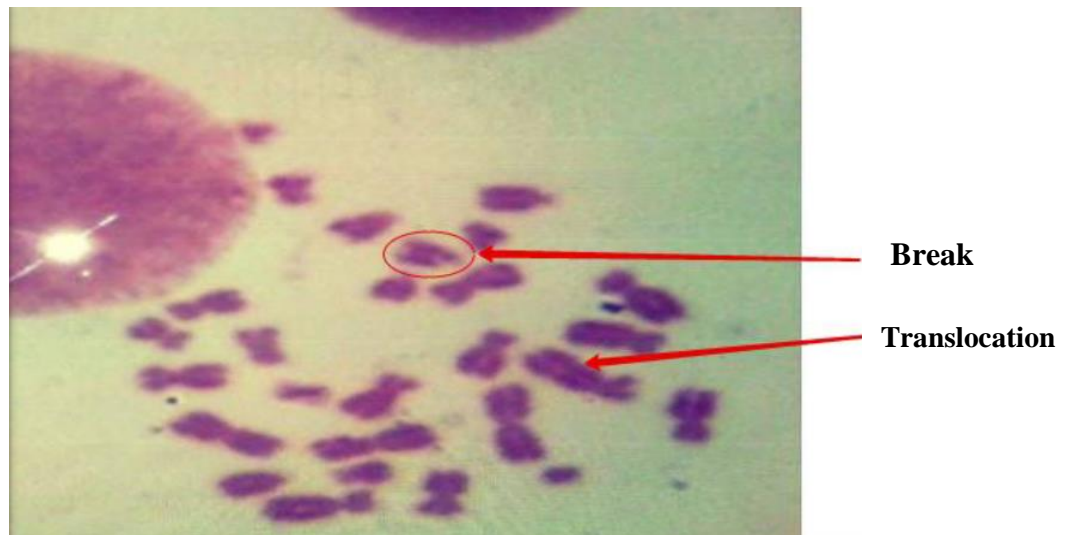
L'ensemble de ces aberrations sont considérées comme des anomalies de type instable, ainsi elles sont des bio-indicateurs d'une exposition à un RI aigu et récent.



**Figure 53 : Métaphase d'une culture cellulaire du sang périphérique, exposée rayonnements  $\gamma$  de 5 Gy, montrant des aberrations de type instable. (laboratoire GMA, USTO, Oran).**

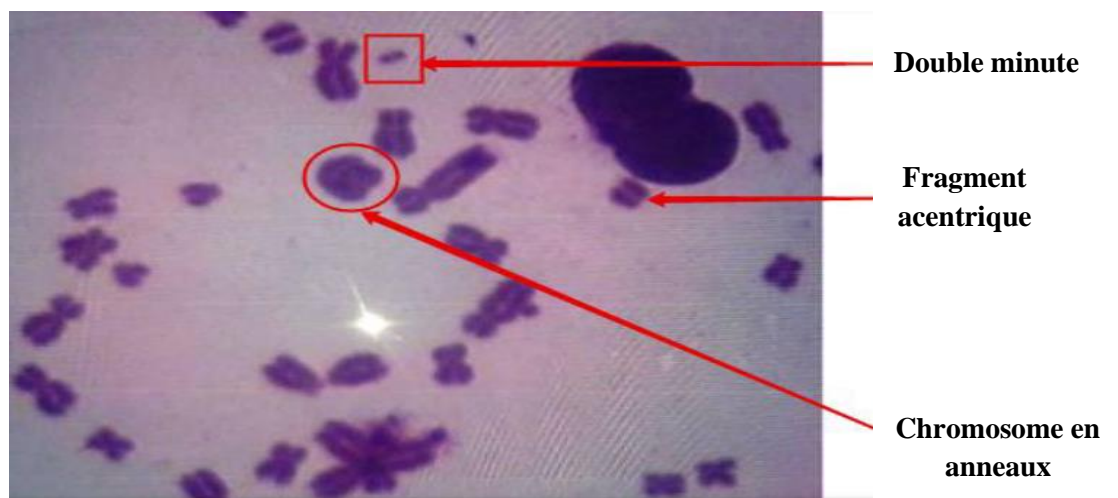
Nous avons également observé d'autres types d'aberrations chromosomiques de structure, tels que les translocations (**figure 54**). Ces remaniements sont mis en évidence seulement quand la morphologie du chromosome est clairement modifiée.





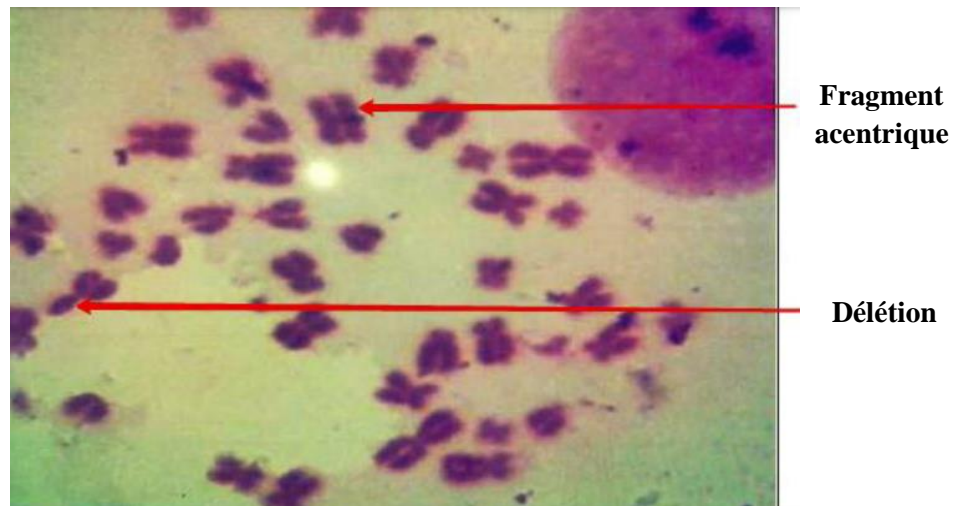
**Figure 54: Métaphase d'une culture cellulaire du sang périphérique, exposée rayonnements  $\gamma$  de 5 Gy, présentant une translocation. (Laboratoire GMA, USTO, Oran).**

Durant l'analyse cytogénétique, nous avons ainsi observé un autre types d'aberrations chromosomiques, il s'agit des chromosomes de forme circulaire, appelés anneaux chromosomiques (**Figure 55**). Ce sont des anomalies non équilibrées de type délétion qui est à l'origine de l'apparition de cette forme ronde des chromosomes (perte du matériel génétique).



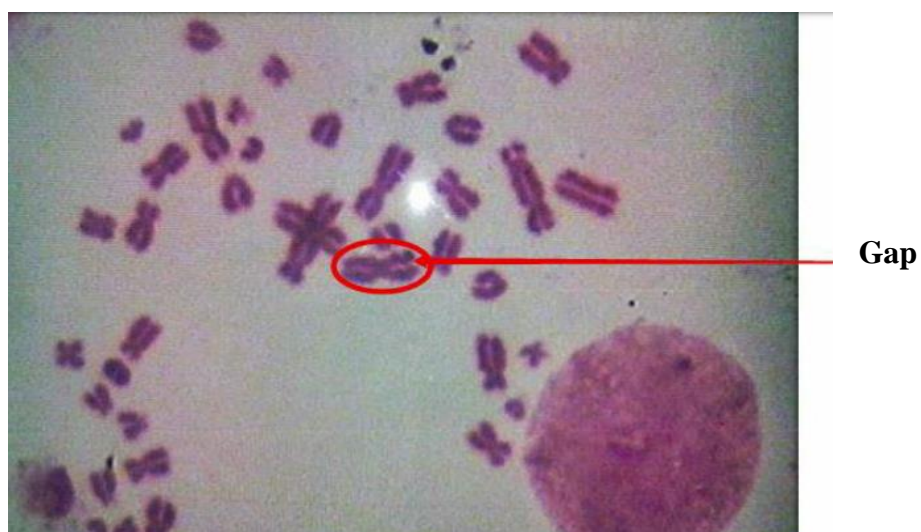
**Figure 55: Métaphase d'une culture cellulaire du sang périphérique, exposée aux rayonnements  $\gamma$  de 5 Gy, avec apparition d'un chromosome en anneau et des chromosomes acentriques. (Laboratoire GMA, USTO, Oran).**

La réalisation de cette analyse cytogénétique, nous a permis aussi de mettre en évidence une autre aberration chromosomique de structure, caractérisée par la perte de matériel génétique sur un chromosome, la délétion qui est représentée dans la (**Figure 56**), elle est de taille variant d'une paire de bases à une région chromosomique.



**Figure 56: Métaphase d'une culture cellulaire du sang périphérique, suite à une exposition aux rayonnements  $\gamma$  de 5 Gy, montrant un chromosome portant une délétion chromatidique. (Laboratoire GMA, USTO).**

Nous avons ainsi observé des aberrations chromatidiques, telles que les gaps (**Figure 57**). Les gaps sont reconnus quand le segment intervenant est plus long ou égale au calibre de la chromatide elle-même, les anomalies suivantes sont reconnues par des régions décolorées au niveau des chromosomes.

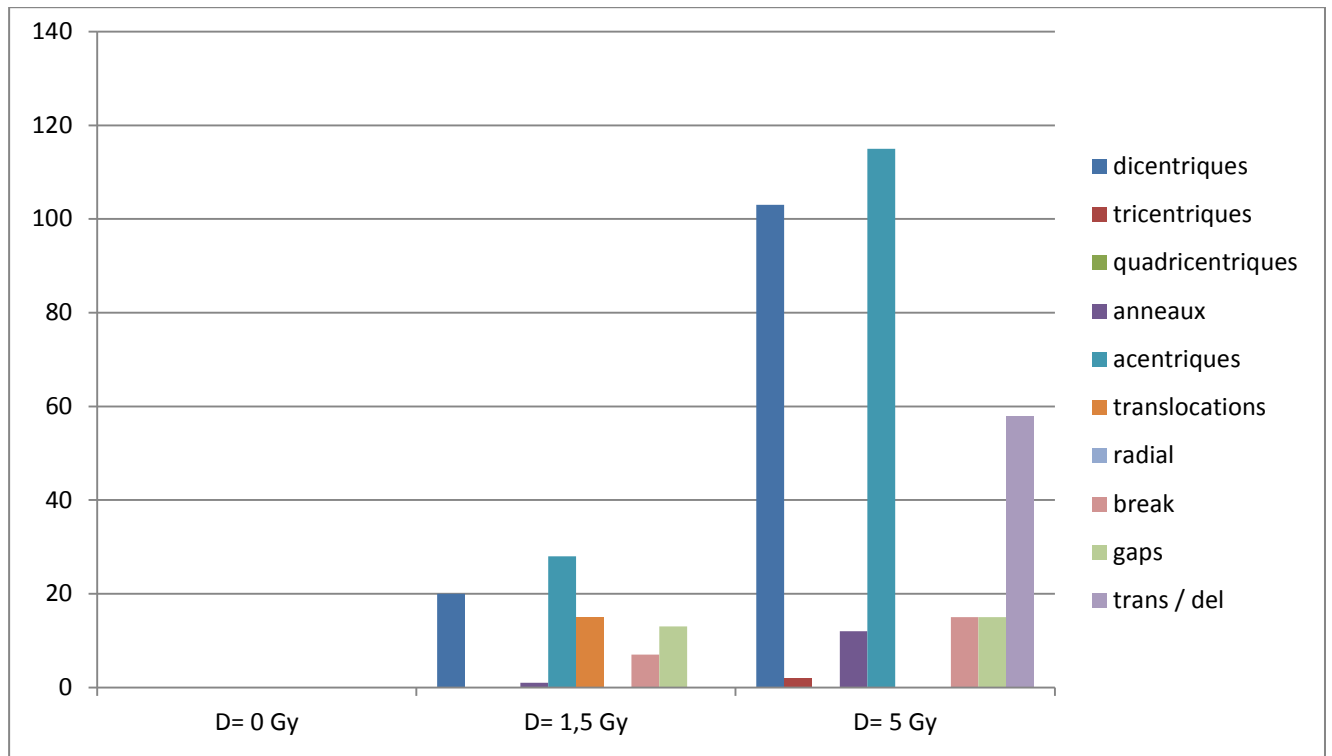


**Figure 57 : Métaphase d'une culture cellulaire de sang périphérique, suite à une exposition aux rayonnements  $\gamma$  de 5 Gy, montrant une anomalie de structure de type « Gap ». (Laboratoire GMA, USTO).**

Aucune aberration de type radial n'a été observée durant cette analyse. Il s'agit d'une aberration très rare qui est caractérisée par deux cassures dans deux chromatides de deux chromosomes différents avec un échange postérieur. Les résultats obtenus par l'analyse cytogénétique, ont été regroupés dans le **Tableau 3** montrant ainsi les différents types d'aberrations chromosomiques observées durant l'analyse.

**Tableau 3: Résultats de la distribution de toutes les aberrations chromosomiques par cellule pour les différentes doses étudiées.**

<b>Dose (Gy)</b>	<b>Métaphases observées</b>	<b>Dicentriques</b>	<b>Tricentriques</b>	<b>Quadri-centriques</b>	<b>Anneaux</b>	<b>Acentriques</b>	<b>Translocations</b>	<b>Radial</b>	<b>Breaks</b>	<b>Gaps</b>	<b>Translo-cations &amp; délétions.</b>
<b>0</b>	<b>10</b>	<b>0</b>	<b>0</b>	<b>0</b>	<b>0</b>	<b>0</b>	<b>0</b>	<b>0</b>	<b>0</b>	<b>0</b>	<b>-</b>
<b>1,5</b>	<b>60</b>	<b>20</b>	<b>0</b>	<b>0</b>	<b>1</b>	<b>28</b>	<b>15</b>	<b>0</b>	<b>7</b>	<b>13</b>	<b>-</b>
<b>5</b>	<b>50</b>	<b>103</b>	<b>2</b>	<b>0</b>	<b>12</b>	<b>115</b>	<b>-</b>	<b>0</b>	<b>15</b>		<b>58</b>



**Figure 58 : Aberrations chromosomiques en fonction de la dose d'irradiation.**

Nous avons constaté par ailleurs, que le nombre des chromosomes transloqués est inférieur à celui des dicentriques pour une dose de 1,5 Gy, ainsi que le nombre des dicentriques est plus élevé pour une dose de 5 Gy par rapport à la dose de 1,5 Gy avec l'apparition des tricentriques pour la dose de 5 Gy.

Cependant, l'étude cytogénétique retient uniquement les dicentriques car ils sont très rares dans les conditions normales et représentent un bon bio-indicateur des irradiations.

### I.2 Analyse statistique

L'analyse statistique, dans l'actuelle étude est basée sur le calcul des différents paramètres statistiques afin d'interpréter les résultats cytogénétiques obtenus :

- la variance,
- la fréquence,
- l'index de dispersion,
- l'erreur standard,
- la valeur d'U de Papworth.

Les résultats statistiques sont collectés dans le **Tableau 4**.

Tableau 4 : Distribution des chromosomes dicentriques dans les 110 cellules analysées.

	Nombre total des dicentriques par cellule					Paramètres statistiques				
	0 Dic	1 Dic	2 Dic	3 Dic	4 Dic	Fréquence	Variance x	DI	U	SE
1,5 Gy	32	27	16	0	0	0,4	0,33	0,82	- 0,09	0,08
5 Gy	5	65	40	15	5	2,06	-2,45	-1,18	1,096	-0,049

Les paramètres statistiques sont : la fréquence des dicentriques ; la variance (moyenne) qui a la même valeur que la fréquence ; l'index de dispersion (DI), l'erreur standard (SE), la valeur U de Papworth comprise entre [-1,96 et +1,96] indiquant une répartition des dicentriques et suit la loi de Poisson.

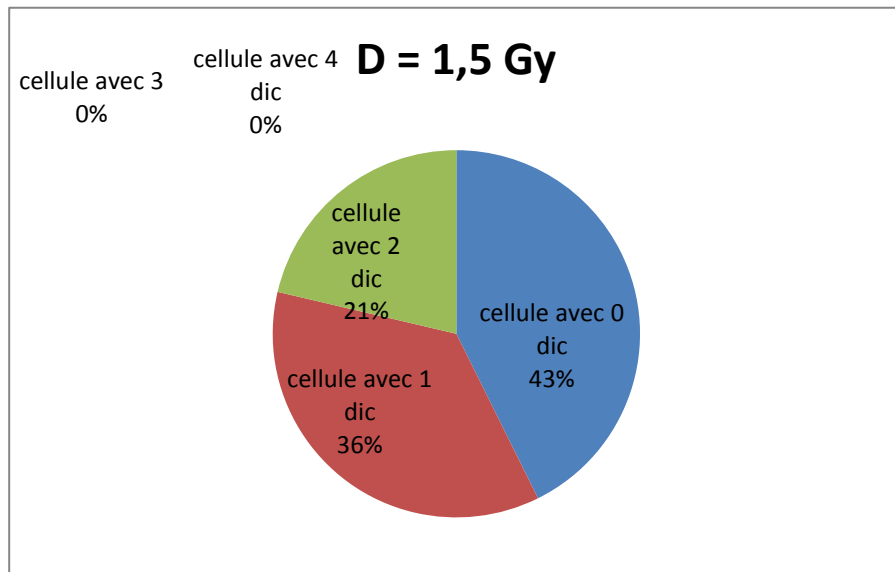


Figure 59: Distribution des dicentriques dans 60 cellules analysées

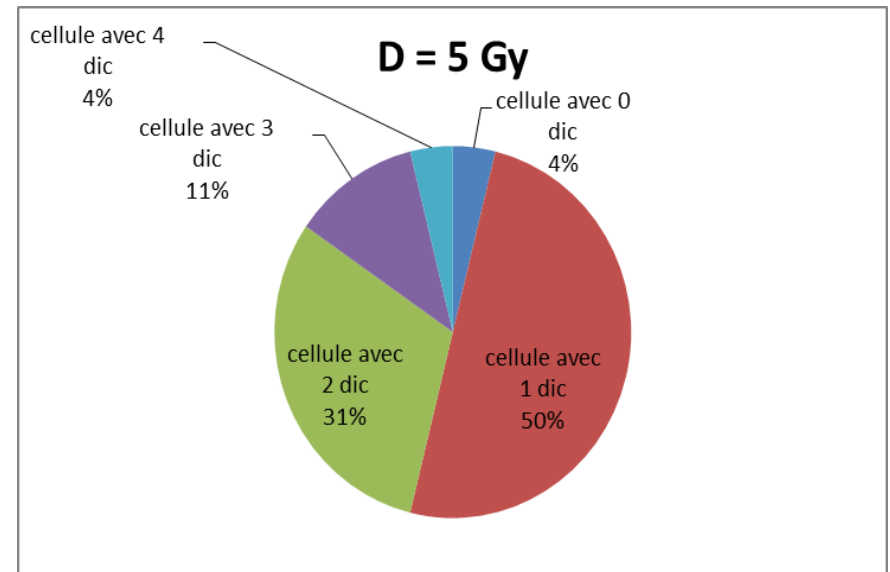


Figure 60: Distribution des dicentriques dans 50 cellules analysées

### II. DISCUSSION

L'étude menée s'est focalisée sur l'analyse cytogénétique de cellules exposées aux RI de type  $\gamma$ . Pour considérer et apprécier les conséquences de ces irradiations au niveau moléculaire, nous avons procédé préalablement à la recherche des aberrations chromosomiques radio-induites en analysant 60 métaphases, irradiées à une faible dose de 1,5 Gy et 50 métaphases irradiées à une forte dose de 5 Gy.

L'analyse et la quantification des diverses anomalies de structure induites in vitro par les rayonnements  $\gamma$ , a été effectuée sur des lymphocytes du sang périphérique humain. De nombreuses expériences ont prouvé que les irradiations, quelle que soit in vitro ou in vivo ont les mêmes conséquences sur les lymphocytes<sup>[70]</sup>.

Si l'irradiation a eu lieu avant la phase S du cycle cellulaire, l'aberration est dite chromosomique. En revanche, si cette dernière a eu lieu après la phase S en G2, les aberrations induites sont de type chromatidiennes. Dans ce cas une chromatide seulement sur les deux chromatides de chaque chromosome sera affectée<sup>[71]</sup>.

Les aberrations chromosomiques spécialement les dicentriques sont considérées comme un outil de choix adopté en dosimétrie biologique. En outre, pour estimer les doses reçues lors d'une exposition accidentelle récente, les dicentriques sont analysés ensuite dénombrés dans les métaphases issues des lymphocytes circulants car ils sont des bio-indicateurs d'un accident radiobiologique<sup>[72]</sup>.

À partir des résultats de l'analyse statistique nous confirmons que la distribution des dicentriques pour les doses délivrées 1,5Gy et 5Gy, suit la distribution de Poisson. Cela indique que l'irradiation était faite d'une manière homogène tout en se basant sur la valeur de U de Papworth qui fait partie de l'intervalle de confiance [-1,96 ; 1,96].

Pour valider nos résultats, nous avons effectué une série de comparaisons avec d'autres travaux scientifiques réalisés dans le même domaine.

La fréquence des dicentriques trouvée dans notre étude a été estimée à 2,06 pour une dose de 5 Gy, tandis que sur le même prélèvement sanguin irradié à une dose de 1,5 Gy montre que la fréquence calculée est de 0,4 elle est donc plus faible que celle de 5 Gy.

Par ailleurs, une autre comparaison a été faite entre nos résultats et ceux de l'étude réalisée par Mme A. Messal<sup>[73]</sup>, par différents doses d'irradiation de 2 Gy, 3 Gy et 4 Gy (**Tableau 5**).

Cependant, cette comparaison montre que la fréquence des dicentriques augmente considérablement avec la dose d'irradiation.

**Tableau 5 : Effets cytogénétiques des rayonnements  $\gamma$  (L'ensemble des polycentriques) observés dans plusieurs métaphases et à différentes doses<sup>[73]</sup>.**

Doses d'irradiations étudiées	Total de métaphases observées	Total de dicentriques analysés	Total de tricentriques analysés parmi les dicentriques	Total de quadricentriques analysés parmi les dicentriques	Fréq des dicentriques Dicentriques/Total des cellules analysées
4 Gy	83	148	3	1	1,78
3 Gy	94	107	4	0	1,13
2 Gy	320	148	2	0	0,46

Par ailleurs, une autre comparaison a été faite avec ceux évalués par quatre laboratoires internationaux, qui constituent un réseau international de bio-dosimétrie<sup>[73]</sup>, cependant pour la comparaison nous avons pris en considération juste les fréquences obtenus des doses d'irradiations de 1,5 Gy de rayon  $\gamma$  (**Tableau 6**).

**Tableau 6 : Fréquence des dicentriques retrouvés à une dose de 1,5 Gy comparés à celle des quatre laboratoires de référence<sup>[74]</sup>.**

Dose d'Irradiation	Laboratoires	Fréquences des dicentriques
1,5 Gy	Laboratoire de GMA, Oran, Algérie	0,4
1,5 Gy	Laboratoire (AFFRRI), USA	0,109
1,5 Gy	Laboratoire(BSO), Germany	0,072
1,5 Gy	Laboratoire(RCREAM), Canada	0,142
1,5 Gy	Laboratoire (REAC/TS), Japon	0,0748

Le **Tableau 6** montre la présence d'une différence importante entre la fréquence que nous avons trouvé et celle évaluée par les 4 laboratoires. En effet, notre fréquence est supérieure aux autres fréquences. Ceci peut être expliqué par le nombre différent de métaphases analysées, les positions géographiques différentes et les variabilités inter-individuelles comme l'efficacité des systèmes de réparation.

L'étude menée par Barquinero et al, <sup>[75]</sup> a montré que qu'il existe une différence dans les fréquences des dicentriques par rapport avec nos résultats (**Tableau 7**). Cela est due à l'influence des différents facteurs, citons comme exemples : le nombre de cellules analysées, l'efficacité de système de réparation ou bien la variabilité interindividuelle des sujets testés. En outre, le prélèvement sanguin utilisé dans notre étude prévenu d'un sujet d'origine « algérienne », par contre, celui utilisé dans l'autre étude, était d'origine « espagnole ».

**Tableau 7 : Comparaison des fréquences des chromosomes dicentriques chez les sujets algérien et espagnol.**

<b>Dose d'irradiation 5 Gy</b>	<b>Nombre de cellules analysées</b>	<b>Nombre des dicentriques</b>	<b>Fréquence des dicentriques</b>
<b>Valeur de la fréquence dans l'étude de J. Barquinero (sujet d'origine espagnole)</b>	59	107	1,81
<b>Valeur de la fréquence dans notre étude (sujet d'origine algérienne)</b>	50	103	2,06

En effet, malgré la divergence apparente entre notre fréquence de dicentriques et celle acquises dans l'autre étude (**Tableau 7**), il reste vrai que la distribution des chromosomes dicentriques est adéquate avec exactitude aux données internationales<sup>[4]</sup>, puisque la valeur de U de Papworth calculée [ $U = 1,096$ ] appartient à l'intervalle de confiance  $\pm 1,96$ .

Nos résultats montrent que notre analyse a été menée de manière correcte puisque la distribution des irradiations est homogène sur l'ensemble du prélèvement.

Des observations prouvent que l'existence d'une variabilité interindividuelle chez l'homme est une source de contrainte dans l'appréciation des risques liés aux expositions professionnelles, thérapeutiques ou accidentelles<sup>[76]</sup>.

De plus, différents facteurs font que l'évolution de la pathologie radio-induite ainsi que les dommages d'ADN causés par l'irradiation ne seront pas similaires d'un individu à l'autre.

Un grand nombre de paramètres entrant en jeu, nous citons ainsi :

- des particularités physiopathologiques mal connues, mais assurément liées à l'individu, comme la radiosensibilité, la radio-adaptation, état de santé de l'individu exposé, variabilités biologiques individuelles et prédispositions génétiques<sup>[77]</sup>.



- la radiosensibilité dépend de la phase dans laquelle la cellule se trouve au moment de l'exposition. Une cellule différenciée quiescente en phase G0 est moins sensible qu'en phase de mitose<sup>[78,79]</sup>.

Même la radiosensibilité dépend également du type cellulaire, généralement, une cellule est d'autant plus sensible qu'elle est peu différenciée et à forte activité mitotique<sup>[80]</sup>. Par exemple, les cellules souches hématopoïétiques, les cellules souches intestinales et les lymphocytes ont une radiosensibilité plus importante que les fibroblastes, les cellules hépatiques ou nerveuses.

En plus de ces facteurs intrinsèques, il existe les paramètres environnementaux comme le degré d'oxygénation, le pH ou la température qui peuvent aussi intervenir, et influencent la radiosensibilité cellulaire. D'autre part, la nature de rayonnement, et donc son TEL, dose reçue, débit de dose, ou la distribution temporelle de la dose, entrent également en compte.

En effet, un faible débit ou un fractionnement de la dose laisse d'avantage le temps et la possibilité aux systèmes de réparation de jouer leur rôle et limitent leur saturation<sup>[81]</sup>.

Dans le cas des REM, la présence d'oxygène au sein de la cellule augmente incontestablement leur efficacité biologique. Elle favorise le mode d'action indirect, mode généralement responsable des lésions moléculaires issues de l'action des photons  $\gamma$ . En outre, l'oxygène favorise la formation d'espèces radicalaires libres, de ce fait une cellule bien oxygénée est bien plus radiosensible qu'une cellule en hypoxie<sup>[82]</sup>.

En cas d'irradiation accidentelle ancienne, quand le délai entre l'irradiation et l'analyse dépasse trois à quatre mois, il n'y a pas d'intérêt à analyser les dicentriques à cause de leur instabilité. D'autres techniques de cytogénétique moléculaire ont été développées, telles que l'Hybridation Fluorescente In Situ (FISH), qui permet l'analyse des aberrations chromosomiques stables de type translocations. Ces dernières sont considérées comme un bio-marqueur d'une irradiation ancienne, car elles persistent plusieurs années après l'exposition<sup>[83]</sup>.

La fréquence des chromosomes dicentriques augmente avec la dose et à partir des courbes de calibrage : Dose/Effet. Nous pouvons alors estimer la dose d'une sur-exposition possible aux différents RI<sup>[84]</sup>. L'analyse des chromosomes dicentriques est donc indispensable pour évaluer rapidement la dose reçue par des individus très récemment exposés aux RI<sup>[85,74]</sup>, afin d'assurer une meilleure prise en charge médicale, surtout dans les cas d'expositions aiguës à des doses supérieures à un Gy ( $>1$  Gy)<sup>[85]</sup>.

## **CHAPITRE IV : Résultats et discussion**

---

Finalelement le but de cette étude a été atteint d'une part, grâce au suivi d'une méthode recommandée et à nos résultats qui sont proches de ceux publiés dans la littérature.

D'autre part, l'acquisition d'une expérience dans le domaine de bio-dosimétrie qui servira en cas d'accident radiologique à la prise en charge des personnes irradiées, d'autant plus, que le Laboratoire de bio-dosimétrie est en voie d'installation au sein du Département de GMA d'Oran.

### CONCLUSION ET PERSPECTIVES

Les RI peuvent porter atteinte à la forme des chromosomes, à la suite des perturbations locales de la structure moléculaire de l'ADN. Un nombre réduit de dommages peuvent subsister et entraîner l'apparition d'aberrations chromosomiques observables, au sein des lymphocytes sanguins, malgré des mécanismes de réparation efficaces, la fréquence des lésions est liée à la nature de la source d'irradiation, à l'intensité et au débit de dose.

Le dicentrique est une aberration chromosomique radio-induite, considérée comme un indicateur spécifique à l'exposition aux RI. L'analyse cytogénétique conventionnelle repose sur la quantification des aberrations chromosomiques radio-induites, particulièrement les dicentriques; cette technique a une valeur médico-légale.

L'analyse des dicentriques est devenue le « Gold Standard » de la bio-dosimétrie<sup>[3]</sup>. C'est un véritable bio-indicateur de la survenue d'un accident radiologique aigu, homogène et récent<sup>[86]</sup>.

Notre étude nous a permis d'identifier et quantifier les aberrations radio-induites, sur des lames préalablement préparées à partir d'un prélèvement du sang périphérique d'un individu sain, irradié avec une dose de 1,5 Gy et 5 Gy de rayonnements  $\gamma$ .

Les lames ont été préparées dans un cadre d'un thème de recherche d'un membre du laboratoire GMA (USTO, Oran) <sup>[73]</sup>, pour établir une courbe de calibrage dose/effet spécifique à l'Algérie.

Après l'analyse cytogénétique, les résultats ont montré la présence de plusieurs aberrations chromosomiques radio-induites, spécialement les dicentriques et d'autres, telles que les translocations, les chromosomes en anneaux et les fragments acentriques.

Par ailleurs, des outils statistiques ont été utilisés pour l'interprétation des résultats cytogénétiques obtenus.

L'analyse des données cytogénétiques et statistiques a montré que nos résultats suivaient la distribution de Poisson. Celle-ci indique que les irradiations ont été faites de manière correcte et qu'elles sont homogènes sur l'ensemble des prélèvements.

Par la suite une série de comparaisons a été faite entre les deux doses étudiées 1,5 et 5 Gy et avec d'autres études similaires, dans le but de vérifier nos résultats.

Cependant, cette comparaison montre que la fréquence des dicentriques augmente considérablement avec la dose d'irradiation

L'étude réalisée en 2009 par A. Messal<sup>[73]</sup>, au Laboratoire GMA (USTO, Oran) sur des lames préparées à partir de lymphocytes, ayant reçu des doses d'irradiations de 2 ; 3 et 4 Gy, a montré aussi qu'il existe une relation proportionnelle entre la fréquence des aberrations chromosomiques et la dose d'irradiation.

Par ailleurs, les résultats de notre étude sont aussi comparables à ceux de Barquintero<sup>[75]</sup>, qui ont révélé que les valeurs calculées sont approximativement relatives. En s'appuyant sur le calcul de U (Popworth), nous concluons que les irradiations réalisées dans notre étude sont homogènes. Cependant, toute différence en valeurs statistiques observées pourrait être expliquée par le nombre faible de cellules irradiées, ainsi qu'au facteur de variabilité inter-individuelle.

L'exposition de la population à de faibles doses est une réalité au quotidien, que ce soit via l'emploi de ces rayonnements en médecine, ou par le poids de la composante environnementale. Cette exposition peut faire apparaître des problématiques nouvelles en termes de radioprotection. Il est donc nécessaire d'approfondir nos connaissances sur les mécanismes d'interaction des RI avec la matière vivante, notamment à des doses telles que celles que l'on peut trouver dans un environnement industriel ou dans la nature, en général inférieures à 200 mSv.

La bio-dosimétrie présente quelques inconvénients significatifs, comme l'utilisation des moyens lourds en matériel nécessaires pour la mettre en œuvre. En plus le caractère transitoire de ces anomalies, interdit toute étude rétrospective à distance de l'irradiation et surtout de l'impossibilité de différencier une irradiation globale ou localisée.

Il est souhaitable de faire intervenir d'autres techniques plus performantes permettant une meilleure observation des anomalies chromosomiques, en particulier les dicentriques. Parmi ces techniques nous citons la PCC (Condensation Prématuration de Chromosomes) qui est une méthode attrayante et rapide pour la dosimétrie biologique.

Elle présente une application particulière pour les expositions à de fortes doses cliniques<sup>[57, 56]</sup>. Elle a également la capacité de détecter les aberrations radio-induites dans plus de 20% des cellules en interphase comme, elle permet aussi de distinguer entre une exposition totale et une exposition partielle d'un individu<sup>[45, 62, 63]</sup>.

Néanmoins, cette technique est particulièrement utilisée pour déterminer les conséquences des doses d'irradiations de basse énergie et de haut TEL<sup>[56,57]</sup>. Nous citons aussi la technique d'Hybridation Fluorescente In Situ (FISH); celle-ci a donné aussi la possibilité de détecter les aberrations par les moyens alternatifs, elle révèle les autres complexes d'échanges

chromosomiques<sup>[44]</sup>, dont les translocations qui sont considérés comme des altérations chromosomiques permanentes dans le temps<sup>[36, 45-48]</sup>.

La méthode FISH a permis aussi la détection rapide des dicentriques et des translocations en même temps, en utilisant des sondes spécifiques de ces chromosomes<sup>[47]</sup>. Cette détection donne des indications précises sur de vrais échanges incomplets et elle peut être faite par des sondes télomériques<sup>[52]</sup>.

Cependant, le développement de la technique Multi FISH (Multifluorochrome FISH), dont les paires chromosomiques sont peint avec des fluorochromes différents<sup>[53]</sup>, à la grande capacité de détecter les aberrations complexes<sup>[54, 55]</sup>.

Finalement la prise en charge rapide des personnes irradiées est nécessaire, afin d'évaluer la dose reçue. Pour cela il est recommandé de mettre en place un laboratoire de dosimétrie biologique dans chaque pays, et de mettre au point une technique adéquate, en vue de l'intégrer dans le réseau international de bio-dosimétrie.

Concernant notre pays, le laboratoire de bio-dosimétrie est en voie d'installation, celui-ci sera destiné à être une référence en matière de bio-dosimétrie à l'échelle nord-africaine et sera intégré dans le réseau international des laboratoires de dosimétrie biologique.

## RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

1. F. Darroudi, Use of FISH translocations analyses for retrospective biological dosimetry : How stable are stable chromosomabberations, *Radiat Prot Dosimetry* 2000. 101-106.
2. I. TURAI, The IAEA'sco-ordinated research project on biodosimetry,1998-2000, *Int. J. Appl. Radiat. Isot.* 52 (2000) 1113–1116.
3. IAEA (2011) International Atomic Energy Agency Technical Report. Cytogenetic Analysis for Radiation Dose Assessment Vienna.
4. IAEA (1986) International Atomic Encregy Agency Technical Biological Domestry chromosomal Aberratio analysis for dose Assesement. Technical Report Vienna 10.
5. Y.S. Cordoliani, H. Foehrenbach, *Radioprotection en milieu médical. Principes et mise en pratique*, 3e édition. (2014) 227.
6. C. Jimonet, H. Métivier. *Personne compétente en radioprotection. Principes de radioprotection – réglementation.* EDP Sciences. CEA. (2007) 280.
7. IRSN, *Rayonnements ionisants*, INRS (2015) 1 – 40.
8. M. Baggenstos, W. Zeller, *Radioactivité et radioprotection.* Berne (2007) 2-36.
9. Arnaud, B. Bastia,I.et al. *Médicaments radiopharmaceutique utilisation pratique*, Publication bimestrielle (France). (1998), XIX, 5-6.
10. R. Santini, J.M. Danze, M. Seigne, B. Louppe. *Guide pratique Européen des pollutions électromagnétiques de l'environnement.* Editions marcopietteur (2000).
11. B. Bröker, *Atlas de la physique atomique et nucléaire*, Le Livre de Poche, (2001), 178-201.
12. J.C. Bodineau, *Détection des rayonnements. Cours post-universitaire de radioprotection*, vol.1, Vienne, AIEA, (1995).
13. E.B. Podgorsak, *Radiation Oncology Physics : A Handbook for Teachers and Technical.* Editor Published (2005)
14. A. Harald, *Introduction to nuclear physics*, Addison-Wesley series in physics. Addison-Wesley Pub. Co., 1966, Original from: the University of Michigan Digitized (2007).
15. E. James Turner, *Atoms, Radiation, and Radiation Protection* , (New York)1986.

16. J.T. Bushberg, Radiation physics for medical physicists, The essential physics of medical imaging (2002)
17. Cherry SR, Sorenson JA, Phelps ME. 'Physics in Nuclear Medicine', 3rd ed. WB Saunders; (2003).
18. International Commission on Radiological Protection: The 2007 Recommendations of the International Commission on Radiological Protection. Ann ICRP. Publication(2007) 103.
19. N. Abdel-Mjid, Métrologie des rayonnements ionisants et mesures environnementales. Institut Pluridisciplinaire Hubert Curien. B.P 28 - 67037 Strasbourg Cedex (2009).
20. J.M. Bordy, La dosimétrie externe des rayonnements ionisants de la référence nationale aux utilisateurs en radiothérapie et en radioprotection, Rapport CEA-R-6214 (2009) 113.
21. A.F. Perez, C. Devic, C. Colin, N. Foray. The low doses of radiation: Towards a new reading of the risk assessment , article in bulletin du cancer (2015) 13
22. Reprinted from Genetics Home Reference (<http://ghr.nlm.nih.gov/>) Handbook Help Me Understand Genetics. Lister Hill National Center for Biomedical Communications U.S National Library of Medicine, National Institutes of Health, Department of Health & Human Services (2016) 203.
23. H. Neitzel, M. Trimborn, Human Chromosomes: Structural and Functional Aspects, Chromosomal Alterations: Methods, Results and Importance in Human Health, Springer-Verlag Berlin Heidelberg (2007) 23.
24. O. David. Morgan, Le cycle cellulaire, De Boeck (2010). 295.
25. I. Obodovskiy, Fundamentals of Radiation and Chemical Safety, Elsevier (2015). 87-131.
26. J.B. FLEUTOT, Les effets des rayonnements ionisants sur la sante (2015) 129.
27. B. Le Guen, R. Masse, Effets des faibles doses des rayonnements ionisants. Toxicologie - Pathologie professionnelle (2007). 13.
28. M. Viau, A.-F. Perez, L. Bodgi et al, Effets de répétitions de doses d'irradiation et réparation de l'ADN : importance du facteur individuel et de l'intervalle de temps entre les doses. Cancer/Radiothérapie (2016) 9.
29. J. Biau, et al. Dbait: un concept innovant pour inhiber la réparation de l'ADN et contribuer aux traitements des cancers. Bull Cancer(2016). 9.
30. G. Vogin, Radiosensitivity, radiocurability and DNA repair. Cancer/Radiothérapie 15 (2011) 294–306.

31. E. Rassa, A. Grabarza, P. Bertranda, B.-S. Lopeza, Double Strand Break Repair, one mechanism can hide another: Alternative non-homologous end joining. *Cancer/Radiothérapie* 16 (2012) 1–10.
32. IAEA (Agence internationale de l'énergie atomique), Dosimétrie cytogénétique : Applications à la préparation et à la conduite des interventions d'urgence radiologique, Vienne (2013). 25-35.
33. A.T. Natarajan, Chromosome aberrations: past, present and future, *Mutation Research* 504 (2002) 3–16.
34. I. Sorokine-durm (IPSN), p. Voisin (IRSN), Les aberrations chromosomiques stables en dosimétrie biologique, Rapport scientifique et technique. (2002) 125-132.
35. Tawn EJ (1987) The frequency of chromosome aberrations in a control population. *Mutation Research/Environmental Mutagenesis and Related Subjects* 182: 303-308.
36. Sorokine-Durm I, Durand V, Delbos M, Le Baron L, Roy L, Voisin P (2000) A French view on FISH painting as a biodosimeter. *Radiation Protection Dosimetry* 88: 35-44
37. Gourmelon P, Roy L, Gregoire E, Durand V, Buard V, Delbos M, Paillole N, Sorokine-Durm I, Voisin P (2006) Study of the tools available in biological dosimetry to estimate the dose in cases of accidental complex over exposure to ionizing radiation: the Lilo accident. *International journal of radiation biology* 82: 39-48
38. M. Tubiana, M.D. Dose–effect relationship and estimation of the carcinogenic effects of low doses of ionizing radiation: the joint report of the académie des sciences (paris) and of the académie nationale de médecine. *Int. J. Radiation Oncology Biol. Phys.*, Vol. 63, (2005) 317–319.
39. M. Tubiana, La prévention du cancer et la relation dose–effet : l'effet cancérogène des rayonnements ionisants, *Cancer/Radiothérapie* 13 (2009) 238–258.
40. R. Berger, Cytogénétique humaine. De 1956 à 2006, *Pathologie Biologie* 55 (2007) 1–12.
41. Pinkel D, Straume T, Gray J (1986) Cytogenetic analysis using quantitative, high-sensitivity, fluorescence hybridization. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 83: 2934-2938.
42. Savage JR, Simpson PJ (1994) FISH “painting” patterns resulting from complex exchanges. *Mutation Research/Environmental Mutagenesis and Related Subjects* 312: 51-60.



43. A.AYOUAZ, thèse : Implication des mécanismes de la réparation de l'ADN dans la maintenance des télomères et l'instabilité chromosomique dans les cellules humaines, (2008).68-69. 216.
44. M.A. Belaud-Rotureau. Analyse par FISH interphasique de différents types de prélèvements tumoraux : options méthodologiques, Annales de Pathologie Volume 24, Supplement 1,2004, Pages 67-68
45. Natarajan A, Balajee A, Boei J, Darroudi F, Dominguez I, Hande M, Meijers M, Slijepcevic P, Vermeulen S, Xiao Y (1996) Mechanisms of induction of chromosomal aberrations and their detection by fluorescence in situ hybridization. *Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis* 372: 247-258
46. Bauchinger M, Salassidis K, Braselmann H, Vozilova A, Pressl S, Stephan G, Snigiryova G, Kozheurov V, Akleyev A (1998) FISH-based analysis of stable translocations in a Techa River population. *International journal of radiation biology* 73: 605-612
47. Lucas J, Awa A, Straume T, Poggensee M, Kodama Y, Nakano M, Ohtaki K, Weier H-U, Pinkel D, Gray J (1992) Rapid translocation frequency analysis in humans decades after exposure to ionizing radiation. *International journal of radiation biology* 62: 53-63
48. Lindholm C, Romm H, Stephan G, Schmid E, Moquet J, Edwards A (2002) Intercomparison of translocation and dicentric frequencies between laboratories in a follow-up of the radiological accident in Estonia. *International journal of radiation biology* 78: 883-890
49. Kodama M, Nakano K, Ohtaki R, Delongchamp AA, N. NAKAMURA Y (1997) Estimation of minimal size of translocated chromosome segments detectable by fluorescence in situ hybridization. *International journal of radiation biology* 71: 35-39
50. Fomina J, Darroudi F, Boei JJ, Natarajan AT (2000) Discrimination between complete and incomplete chromosome exchanges in X-irradiated human lymphocytes using FISH with pan-centromeric and chromosome specific DNA probes in combination with telomeric PNA probe. *Int J Radiat Biol* 76 807-813
51. Knehr S, Zitzelsberger H, Bauchinger M (1998) FISH-based analysis of radiation-induced chromosomal aberrations using different nomenclature systems. *Int J Radiat Biol* 73 135-141
52. Boei J, Vermeulen S, Fomina J, Natarajan A (1998) Detection of incomplete exchanges and interstitial fragments in X-irradiated human lymphocytes using a telomeric PNA probe. *International journal of radiation biology* 73: 599-603
53. Speicher MR, Ballard SG, Ward DC (1996) Karyotyping human chromosomes by combinatorial multi-fluor FISH. *Nature genetics* 12: 368-375

54. Anderson RM, Marsden SJ, Paice SJ, Bristow AE, Kadhim MA, Griffin CS, Goodhead DT (2003) Transmissible and non transmissible complex chromosome aberrations characterized by three-color and mFISH define a biomarker of exposure to high-LET  $\alpha$  particles. *Radiation Research* 159: 40-48
55. Wu H, Durante M, Furusawa Y, George K, Kawata T, Cucinotta F (2003) M-FISH analysis of chromosome aberrations in human fibroblasts exposed to energetic iron ions in vitro. *Advances in Space Research* 31: 1537-1542
56. Pantelias GE, Maillie HD (1985) Direct analysis of radiation-induced chromosome fragments and rings in unstimulated human peripheral blood lymphocytes by means of the premature chromosome condensation technique. *Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis* 149: 67-72
57. Prasanna P, Kolanko C, Gerstenberg H, Blakely W (1997) Premature Chromosome Condensation Assay for Biodosimetry; Studies with Fission-Neutrons. *Health physics* 72: 594-600
58. Turai I (2000) The IAEA's Co-ordinated Research Project on Biodosimetry (1998-2000). *Int J Appl Radiat Isot* 52 1113-1116
59. Johnson R, Rao P (1970) Mammalian cell fusion: induction of premature chromosome condensation in interphase nuclei.
60. Kanda R (1999) Easy biodosimetry for high-dose radiation exposure using drug-induced, premature lycondensed chromosomes. *International journal of radiation biology* 75: 441-446
61. Gotoh E, Tanno Y, Takakura K (2005) Simple biodosimetry method for use in cases of high-dose radiation exposure that scores the chromosome number of Giemsa-stained drug-induced prematurely condensed chromosomes (PCC). *International journal of radiation biology* 81: 33-40
62. Blakely W (2001) Radiation exposure assessment using cytological and molecular biomarkers. *Radiation Protection Dosimetry* 97: 17-23
63. Darroudi F (1998) Detection of total and partial-body irradiation in a monkey model: a comparative study of chromosomal aberration, micronucleus and premature chromosome condensation assays. *International journal of radiation biology* 74: 207-215
64. Martin M, Begg J (1997) Detection of radiation-induced chromosome aberrations using fluorescence in situ hybridization in drug-induced premature chromosome condensations of tumour cell lines with different radiosensitivities. *International journal of radiation biology* 71: 265-273

65. Countryman PI, Heddle JA (1976) The production of micronuclei from chromosome aberrations in irradiated cultures of human lymphocytes. *Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis* 41: 321-333
66. Fenech M (1993) The cytokinesis-block micronucleus technique: a detailed description of the method and its application to genotoxicity studies in human populations. *Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis* 285: 35-44
67. Aljohani MS (2008) Peaceful applications of nuclear technology in the GCC countries. *Atom for peace conferences Jeddah*
68. Fineren D (2013) Nuclear Saudi Arabia a lifeline for the atomic energy industry. *Reuters*, April 23.
69. Fisher RA (1922) On the mathematical foundations of theoretical statistics. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London Series A, Containing Papers of a Mathematical or Physical Character* 222: 309-368.
70. IAEA (2001) International Atomic Energy Agency Technical Report. *Cytogenetic Analysis for Radiation Dose Assessment Vienna*.
71. Braselmann H, Kulka U, Huber R, Figel H, Zitzelsberger H (2003) Distribution of radiation-induced exchange aberrations in all human chromosomes. *International journal of radiation biology* 79: 393-403
72. Buckton K, Brown W, Smith P (1967) Lymphocyte survival in Men treated with X-rays for ankylosing spondylitis. *Nature* 214: 470-473.
73. Messal A (2009) Magister en BMA contribution à l'analyse des modifications chromosomiques radioinduites. Réalisation d'une courbe dose/effet algérienne. *USTO*.
74. Prasanna P, Krasnopolsky P, Livingston G, Martin P, Romm H, Subramanian H, Wilkins R, Yoshida M (2008) Laboratory automation for Cytogenetic biodosimetry and Inter-Laboratory Comparaison of the Dicentric Assay. *Radioprotection*.
75. Barquinero JF, Barrios L, Caballín MR, Miró R, Ribas M, Subias A, Egozcue J (1995) Establishment and validation of a dose-effect curve for  $\gamma$ -rays by Cytogenetic analysis. *Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis* 326: 65-69
76. Shiloh Y (2003) ATM and related protein kinases: safe guarding genome integrity. *Nature Reviews Cancer* 3: 155-168.
77. Wood KJ, Sawitzki B (2006) Interferon  $\gamma$ : a crucial role in the function of induced regulatory T cells in vivo. *Trends in immunology* 27: 183-187

78. Lliakis G (1991) The role of DNA double strand breaks in ionizing radiation-induced killing of eukaryotic cells. *Bio-Assays* 13: 641-648.
79. Symons MC (1994) Direct and indirect damage to DNA by ionising radiation. *Radiation Physics and Chemistry* 43: 403-405
80. Shirai K, Mizui T, Suzuki Y, Kobayashi Y, Nakano T, Shirao T (2006) Differential effects of x-irradiation on immature and mature hippocampal neurons in vitro. *Neuroscience letters* 399: 57-60.
81. Foechrenbach H, Cordoliani Y (2002) Effets biologiques des rayonnements ionisants. *Masson* 42(6): 517-523.
82. Regulus P (2006) Detection, characterization and measure of a new radiation-induced damage in isolated and cellular DNA.
83. Buckton K, Brown W, Smith P (1967) Lymphocyte survival in Men treated with X-rays for ankylosingspondylitis. *Nature* 214: 470-473.
84. Turai I (2000) The IAEA's Co-ordinated Research Project on Biodosimetry (1998-2000). *Int J Appl RadiatIsot* 52 1113-1116.
85. Lloyd DC, Edwards AA, Moquet JE, Guerreo-Carbajal. (2000) The role of cytogenetics in early triage of radiation casualties. *Appl RadiatIsot* 52: 1107-1112
86. Duran A, Barquinero JF, Caballin MR, Ribas M, Puig P, Egozcue J, Barrios L (2002) Suitrability of FISH painting technique for the dection of partialbody irradiation for biological dosimetry. *Radiation Research* 157: 461-480

# **CHAPITRE I**

## **Physique des rayonnements ionisants**

# **CHAPITRE II**

## **Radiobiologie**

# **CHAPITRE III**

## **Matériels et méthodes**

# **CHAPITRE IV**

## **Résultats et discussion**



# **CHAPITRE V**

## **Conclusion et perspectives**

## RÉSUMÉ

La dosimétrie biologique est une discipline qui permet de déterminer la dose d'irradiation ionisante reçue par un individu (naturelle, accidentelle, professionnelle) à partir de paramètres biologiques. Elle repose sur l'analyse des chromosomes dicentriques, qui sont considérés comme de véritables bio-indicateurs, car ils sont très rares à l'état naturel.

Notre étude a pour objectif, l'identification des aberrations chromosomiques dites radio-induites par l'analyse des étalements des échantillons lymphocytaires au niveau du laboratoire de Génétique Moléculaire Appliquée (GMA, Oran).

Les résultats obtenus ont été interprétés à l'aide d'outils statistiques qui ont servi par la suite à confirmer les données requises.

L'analyse a porté sur 120 lames, sur lesquelles la recherche et le décompte a concerné plus de 400 métaphases. Parmi elles, 60 lames ont été irradiées pour une dose de 1,5 Gy, 50 lames pour une dose de 5 Gy et enfin 10 lames n'ont subies aucune irradiation (0 Gy).

À partir des résultats statistiques obtenus, nous avons procédé à une série de comparaison avec d'autres travaux réalisés par différents auteurs, qui montrent également que la fréquence des dicentriques augmente considérablement avec la dose d'irradiation reçue en se référant à la valeur de U Popworth, dont le but est de vérifier l'homogénéité de l'irradiation au niveau des échantillons.

L'évaluation d'une éventuelle dose d'irradiation se fait dans le cadre de la prise en charge des personnes irradiées, raison pour laquelle il est recommandé dans la mesure du possible de mettre en place un laboratoire de dosimétrie biologie dans chaque pays.

**Mots clés :** dosimétrie biologique ; irradiation ; aberrations chromosomiques ; cytogénétique.

## ABSTRACT

The biological dosimetry is a discipline which allows to determine the dose of irradiation ionisante received by an individual (natural, accidental, professional) from biological parameters. It bases on the analysis of chromosomes dicentric, which are considered as real bio-indicators, because they are very rare in the natural condition.

Our study has for objective, the identification of the said chromosomal aberrations radiation-induced by the analysis of the spreadings of samples lymphocytaires at the level of the laboratory of Molecular Applied Genetics (GMA, Oran).

The obtained results profits were interpreted by means of statistical tools which served afterward to confirm the required data.

The analysis concerned 120 blades, on which the research and the discount concerned more than métaphases 400. Among them, 60 blades were irradiated for a dose of 1,5 Gy, 50 blades for a dose of 5 Gy and finally 10 blades underwent no irradiation (0 Gy).

From the obtained statistical results, we proceeded to a series of comparison with other works realized by different authors, who also show that the frequency of dicentric increases considerably with the dose of received irradiation by referring to the value of U Popworth, the purpose of which is to verify the homogeneity of the irradiation at the level of samples.

The evaluation of a possible dose of irradiation is made within the framework of the coverage of the irradiated people, reason why it is as possible recommended to set up a laboratory of dosimetry biology in every country.

**Keywords:** biological dosimetry; irradiation; chromosomal aberrations; cytogenetics.

## ملخص

قياس الجرعات البيولوجية هو انضباط يساعد على تحديد جرعة الإشعاع المؤين المستقبلية من قبل فرد سواء كانت طبيعية ، مهنية او ناتجة عن حادث انطلاقا من عوامل بيولوجية و هي تركز اساسا على تحليل الكروموزومات ذو مركزين، والتي تعد حقيقية-المؤشرات الحيوية، أنها نادرة جدا في الطبيعة

هدف الرئيسي من دراستنا هو تحديد التشوهات الكروموسومية عن طريق تحليل العينات اللغافية في مختبر الوراثة الجزيئية والخلوية بوهان

النتائج المتحصل عليها تم تفسيرها باستخدام الأدوات الإحصائية لتأكيد صحة البيانات المطلوبة. وركزنا في البحث على التحليل 120 عينة تحوي أكثر من 400 الطورية. من بينها، 60 عينة خضعت لجرعة مقدرة ب 1.5 غراي، 50 الشرائح لجرعة من 5 غراي، وأخيرا 10 شفرات لم تتعرض لأي اشعاع 0 غراي

من خلال هذه النتائج الإحصائية، أجرينا سلسلة من المقارنات مع غيرها من الأعمال التي تقوم بها مؤلفين مختلفين، والتي تظهر أيضا أن وتيرة زيادة تزايد الكروموزومات ذو مركزين بشكل كبير مع جرعة الإشعاع المستقبلية بالرجوع قيمة U Popworth.

و ذلك بهدف تحقيق تجانس تشيع في العينات.

السبب وراء هذه الدراسة هو تقييم جرعة الإشعاع في ظل التكفل و تقديم الرعاية اللازمة للأشخاص المعرضون للإشعاع و لهذا الهدف و ان كان في الامكان من المستحسن لانشاء مختبر قياس الجرعات البيولوجي في كل بلد.