

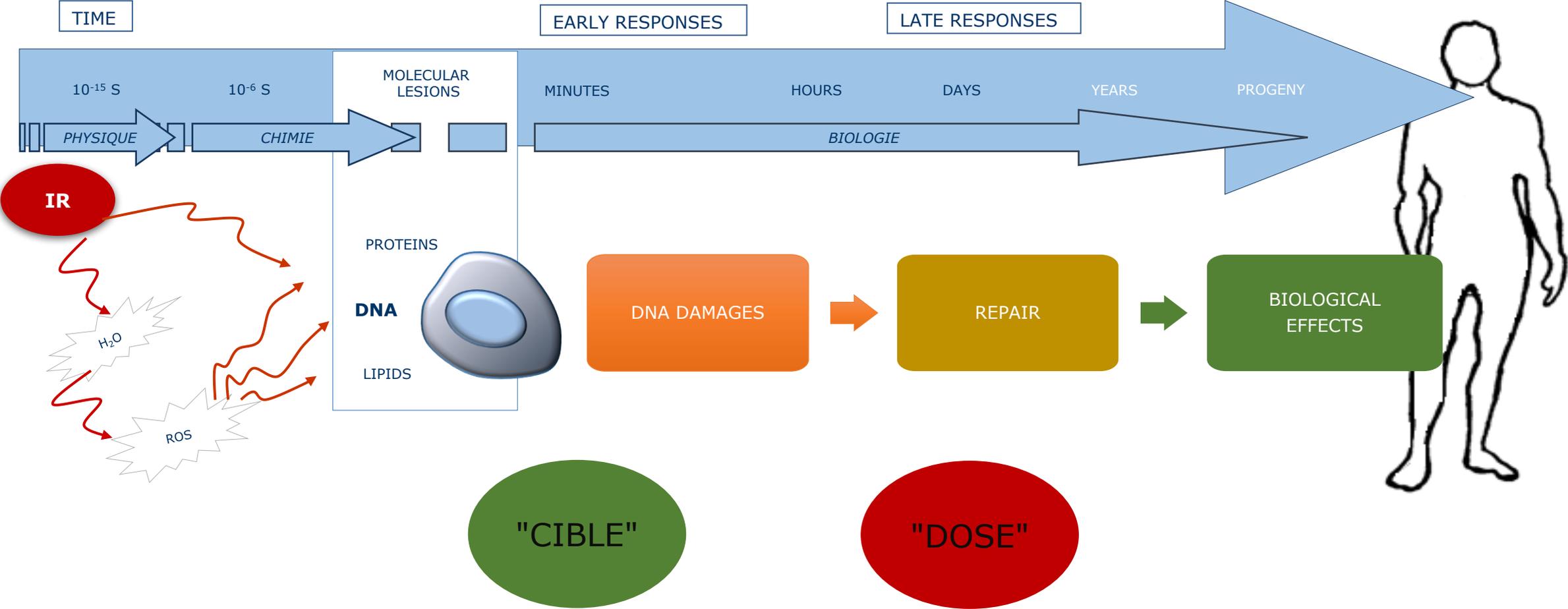
# Micro dosimétrie des irradiations par microfaisceau d'ions en utilisant les méthodes Monte Carlo

Eva TORFEH

Directeur de thèse: Philippe BARBERET  
Group iRiBiO (Interactions Rayonnements Ionisants et Biologie)

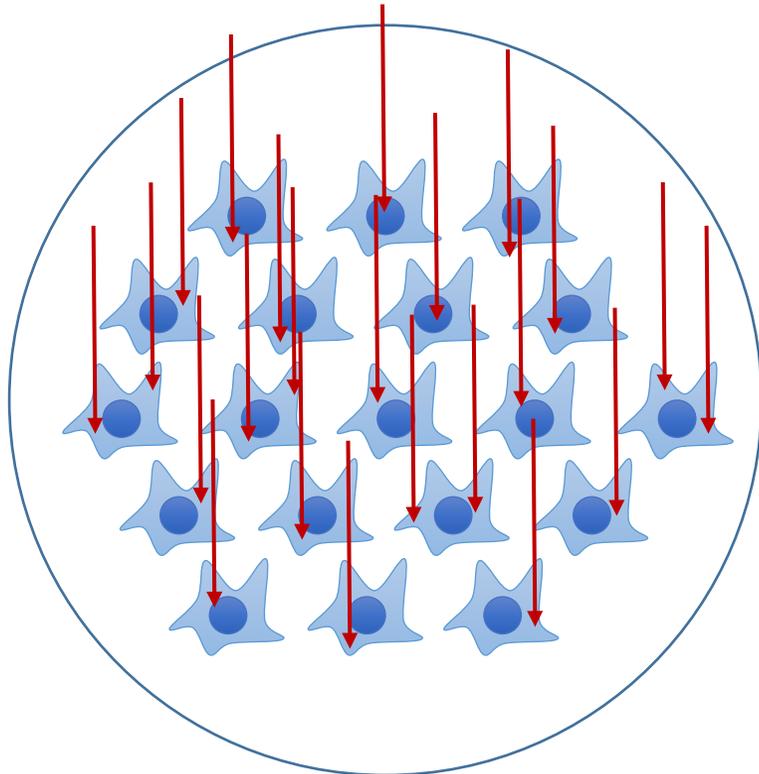


# Etudes en Radiobiologie

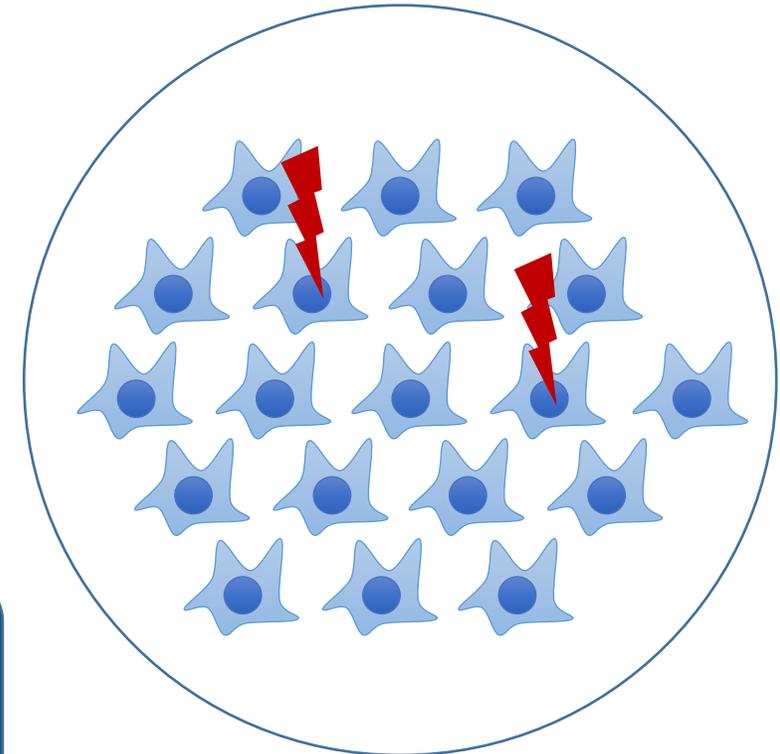


# Différentes méthodes d'irradiation

## Irradiation aléatoire d'une population



## Irradiation sélective et ciblée d'une cellule

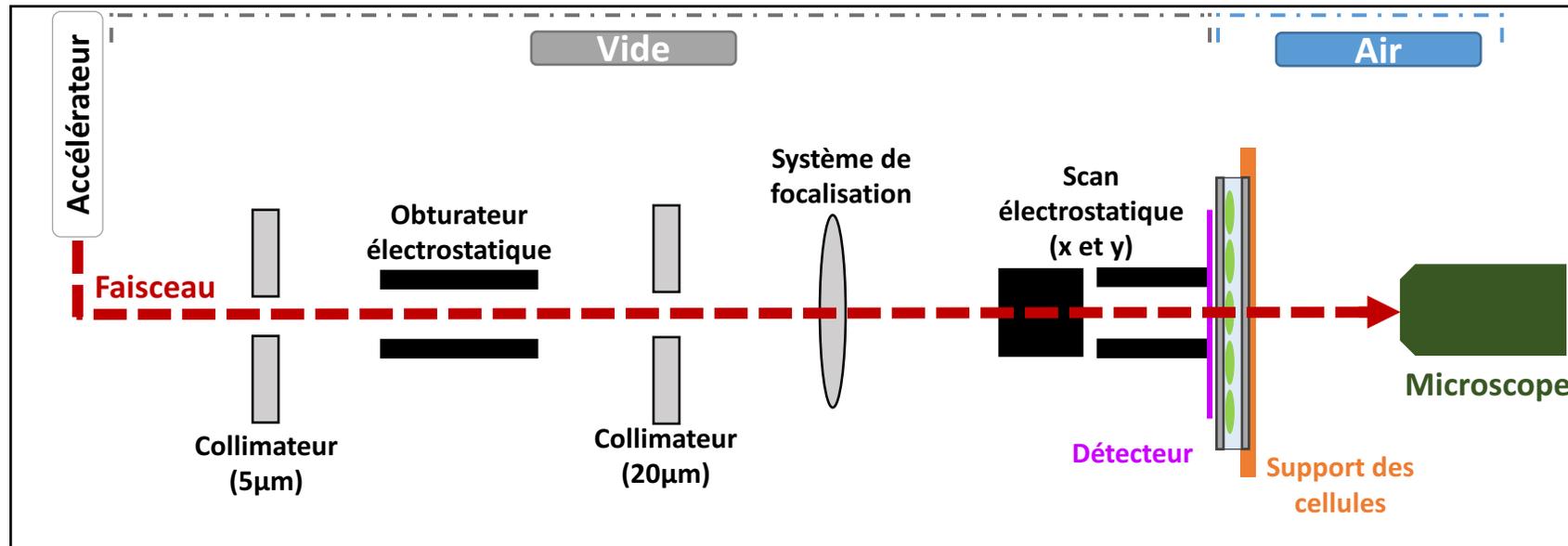


**Microfaisceau  
de particules  
chargées AIFIRA**

# Microfaisceau et Micro Irradiation d'échantillons biologiques



## Applications Interdisciplinaires des Faisceaux d'Ions en Région Aquitaine



- Accélérateur électrostatique :  
p<sup>+</sup> et α de 3 MeV
- Ligne Microfaisceau :
  - **Irradiation ciblée** à l'échelle d'une cellule
  - **Dose contrôlée** : nombre précis de particule
  - Taille du faisceau **1-2 μm**
  - Vidéo microscopie: Visualisation et quantification **en temps réel**

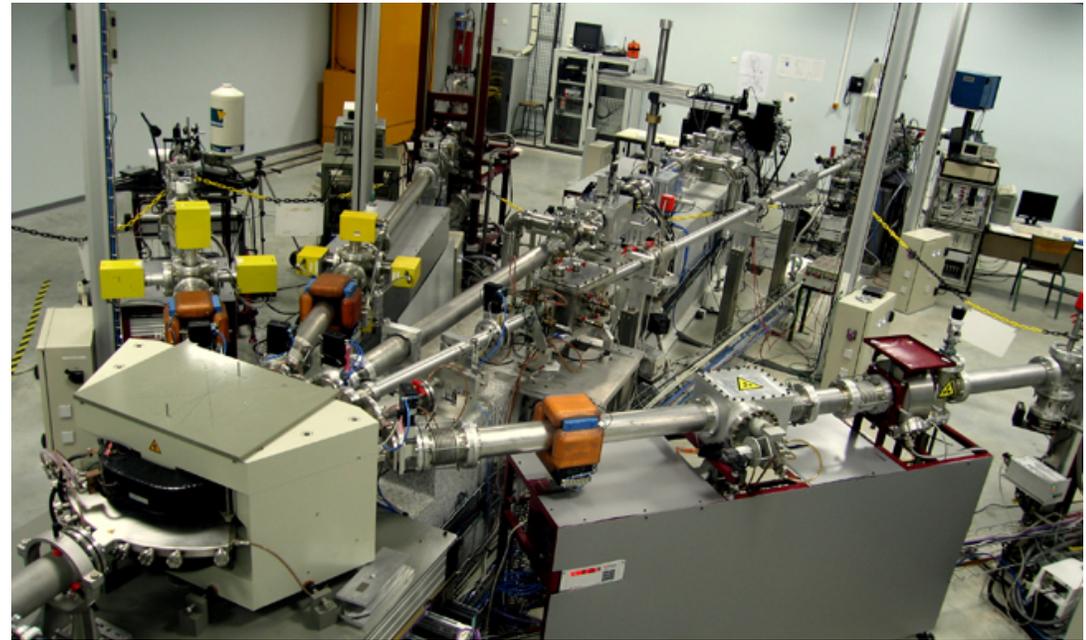
# Microfaisceau et Micro Irradiation d'échantillons biologiques



Applications Interdisciplinaires des Faisceaux  
d'Ions en Région Aquitaine



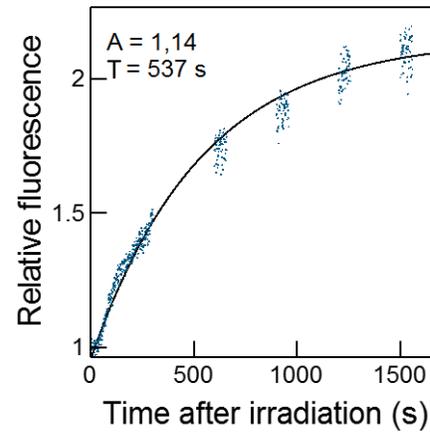
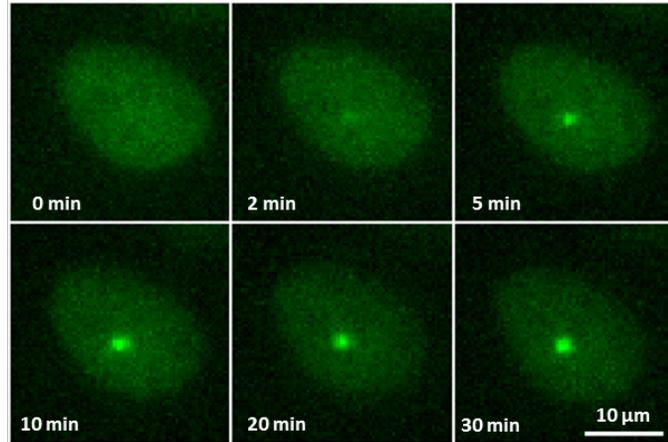
Accélérateur de la plateforme Aifira



Les 5 lignes de faisceau

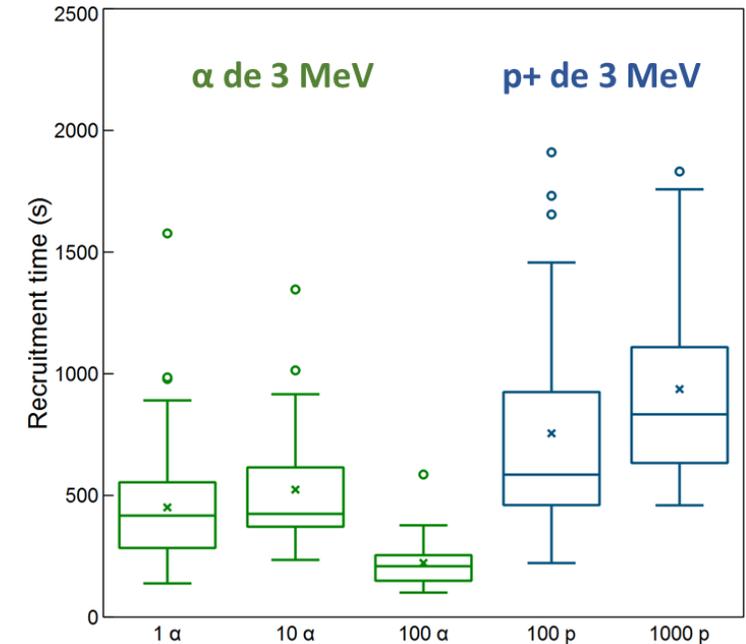
# I- Micro-irradiation à l'échelle cellulaire: Etude cinétique de protéines de réparation d'ADN

Thèse de **Giovanna Muggioli 2017, Université de Bordeaux**



$$Rel\ Int = 1 + A \left( 1 - e^{-\frac{(t-t_0)}{T}} \right)$$

Différentes réponses biologique en fonction:  
du TEL  
de l'énergie déposée  
du nombre de dommages ADN



Résultats statistiques pour environ 30  
cellules par condition d'irradiation

G. Muggioli *et al.*, "Single  $\alpha$ -particle irradiation permits real-time visualization of RNF8 accumulation at DNA damaged sites", *Sci. Rep.*, vol. 7, no. 41764, 2017.

- Irradiation avec 1000 p+ de lignée GFP : **RNF8** -> Réparation **DSBs**
- Spot fluorescence: **Accumulation de protéine**
- Acquisition vidéo-microscopie pendant 30 min
- Mesure en temps réel de l'**intensité de fluorescence**
- **T = temps de recrutement (s)**
- **A = Valeur max d'intensité**

# Micro dosimétrie en utilisant Geant4/Geant4-DNA

- **GEometry AND Tracking** toolkit pour la simulation du passage de particules à travers la matière en utilisant les méthodes Monte-Carlo
- **Geant4-DNA** :
  - Version pour la modélisation des dommages biologiques précoces induits par les rayonnements ionisants à l'échelle de l'ADN
  - Simuler chaque interaction en détail jusqu'à environ 10 eV dans de l'eau liquide
  - Code de simulation de structure de trace



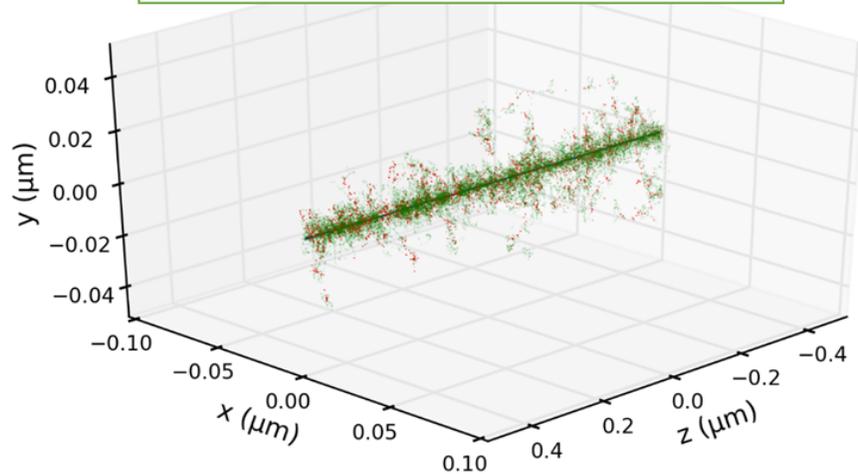
# Simulations avec Geant4-DNA :

## 1- Structure de traces

**$\alpha$  de 3 MeV dans 1  $\mu\text{m}$  d'eau**  
**TEL = 148 KeV/ $\mu\text{m}$**

Etot = 149.54 KeV

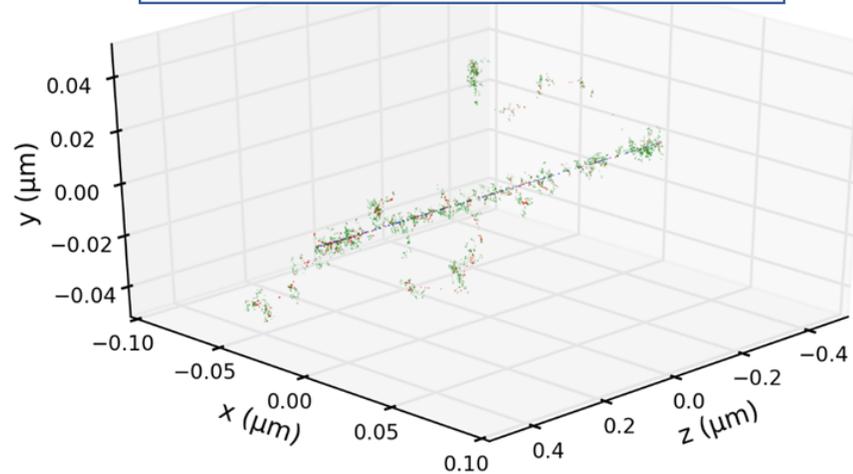
- 2433  $\alpha$  ionisations
- 5242 e- ionisations
- 38614 excitations



**P+ de 3 MeV dans 1  $\mu\text{m}$  d'eau**  
**TEL = 12 KeV/ $\mu\text{m}$**

Etot = 13.94 KeV

- 196 protons ionisations
- 518 e- ionisations
- 38614 excitations

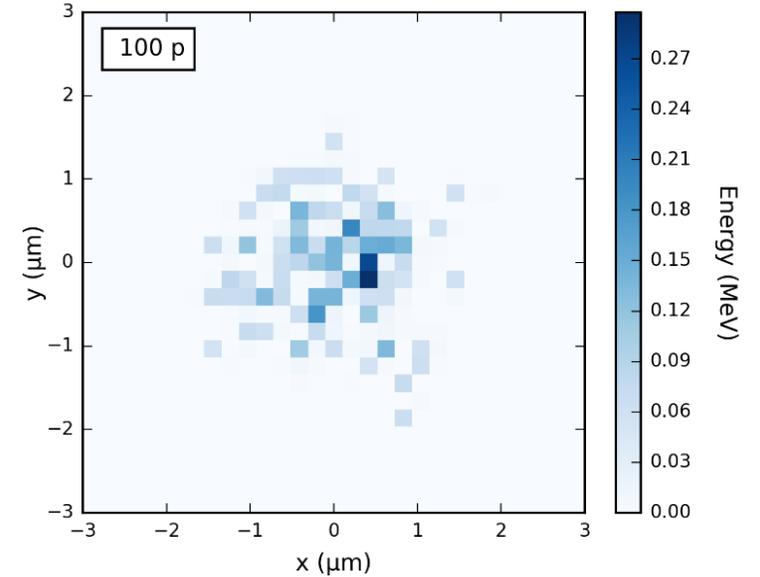
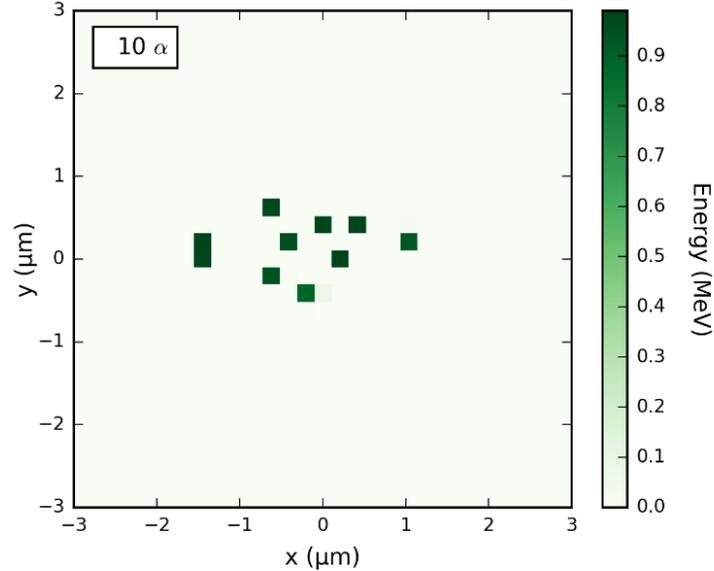
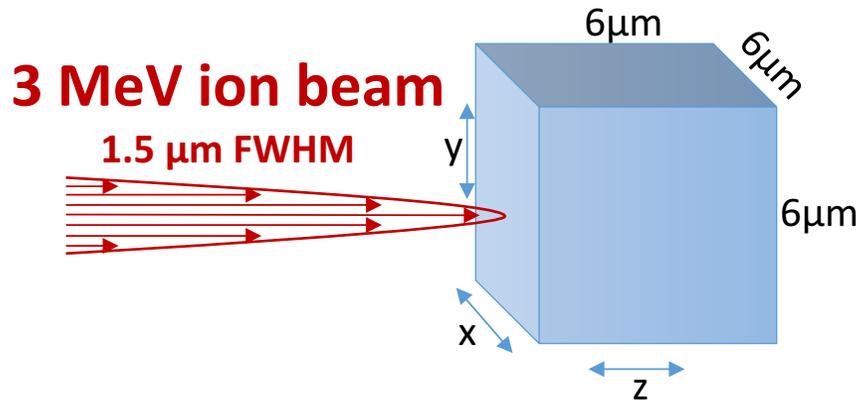


- TEL de  $\alpha$  10 fois plus grand que TEL de p+
- Processus physique 10 fois plus avec des  $\alpha$  qu'avec des protons
- Densité d'ionisation importante pour définir les dommages ADN

# Simulations avec Geant4-DNA :

## 2- Distribution d'énergie

Représentation schématique du setup de la simulation



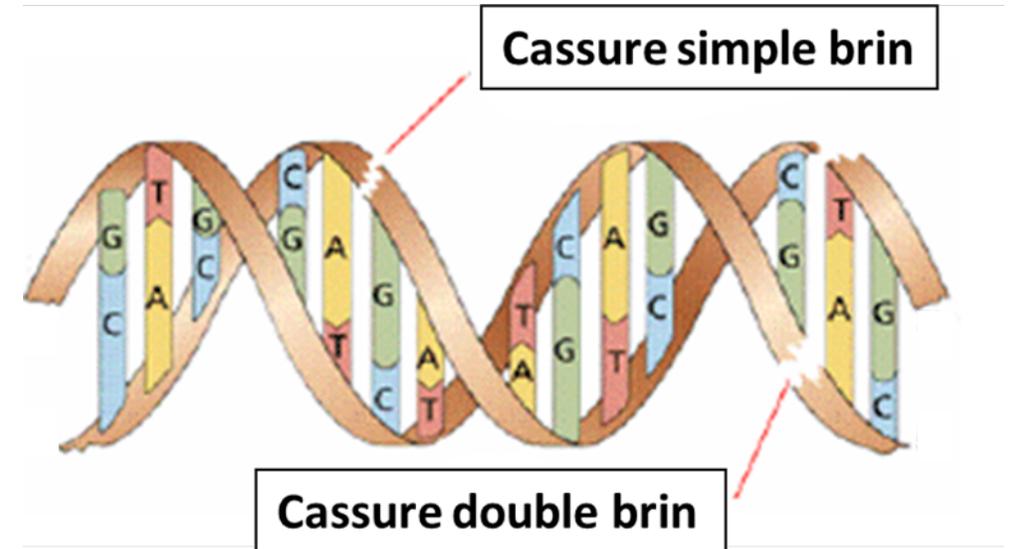
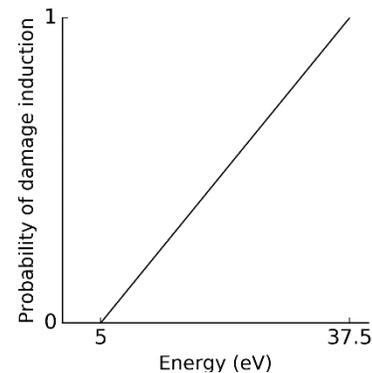
- Energie totale moyenne déposée similaire pour 10  $\alpha$  et 100 p+
- Différentes distributions d'ionisations et d'excitations des 2 particules

Différences de distributions des dommages ADN ?

# Simulations avec Geant4-DNA :

## 3- Clustering des dommages ADN

- Basant sur le code **Clustering** de **G4-DNA**
- Algorithme basée sur **DBSCAN** (Density Based Spatial Clustering of Applications With Noise)
- Calcul de nombre de différents dommages ADN
  - **SSB** : interaction localisée dans un région sensible (probabilité de 0,2) ayant une énergie suffisante pour induire de dommage

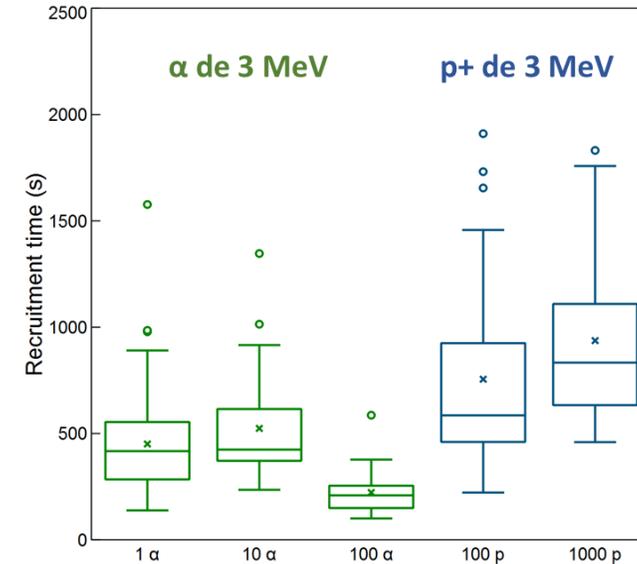
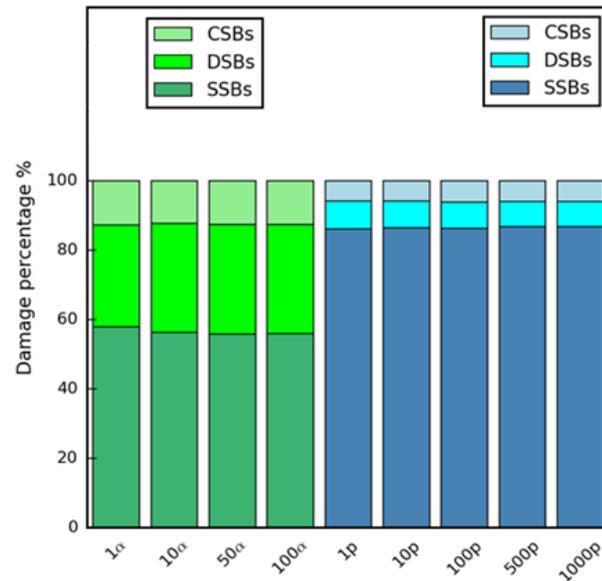
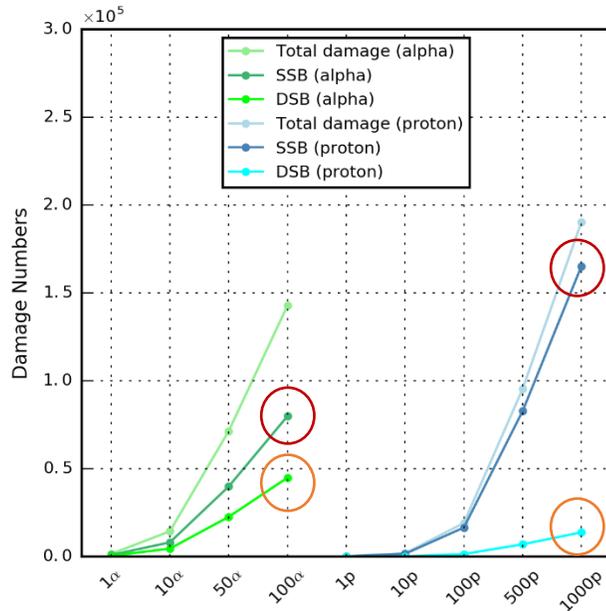


- **DSB** : cluster formées de 2 SSBs distantes de moins de 3,4 nm (10 pb) au moins 1 située sur un brin opposé de l'ADN
- **CSB** : clusters formés de plusieurs SSBs distants de moins de 3,4 nm (10 pb)

Z. Francis *et al.*, "Simulation of DNA damage clustering after proton irradiation using an adapted DBSCAN algorithm", *Comput. Methods Programs Biomed.*, no. 101, pp. 265-270, 2011.

# Simulations avec Geant4-DNA :

## 3- Clustering des dommages ADN

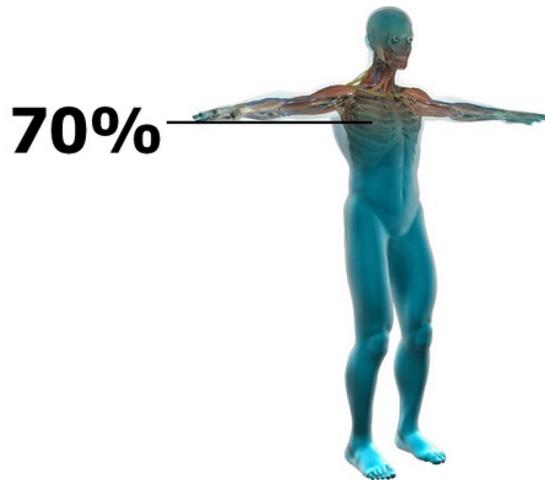


- Nombre de dommages ↗↗ avec la dose indépendamment du types de particules
- Pour  $\alpha$  : **56% SSB**   **31% DSB**   **13% CSB**
- Pour p : **86% SSB**   **8% DSB**   **6% CSB**
- En comparant une même dose : 100 $\alpha$  -> ++DSBs  
1000 p -> ++SSBs

- RNF8 impliqué dans la réparation des DSBs
- Avec  $\alpha$  -> ++DSBs -> ++ rapide
- Avec p -> ++SSBs -> -- rapide  
Compétition entre protéines sur le site de dommages

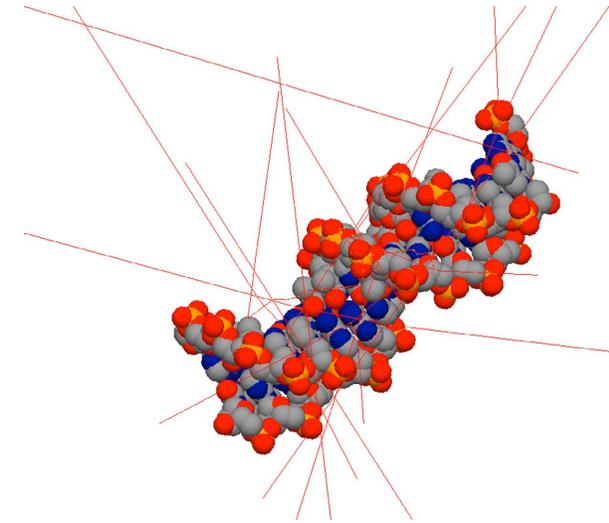
# Prochaines étapes

- Simulation avec des **modèles réalistes de l'ADN** en passant des nucléotides jusqu'au noyau
- Prendre en compte la modélisation du stade physico-chimie : interaction entre les molécules après la radiolyse de l'eau -> **Domages Indirectes**

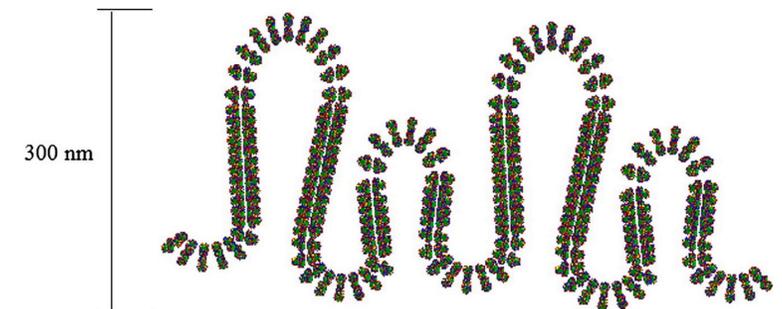


Modèles existants pour une bactérie

N. Lampe *et al.*, " Mechanistic DNA damage simulations in Geant4-DNA Part 2: Electron and proton damage in a bacterial cell", *Physica Medica*, vol. 48, pp. 146-155, 2018.



Exemple d'irradiation de 16 paire de bases de B-ADN molécule par 10 électrons de 10 keV, simulés avec l'exemple Geant4-ADN «pdb4dna»  
*Incerti, S. et al., Physica Medica 2016*



Exemple de fibre de chromatine de 300 nm implémentée dans Geant4  
*Incerti, S. et al., Physica Medica 2016*

## II- Micro-irradiation d'un organisme vivant: Etude des effets radio-induit

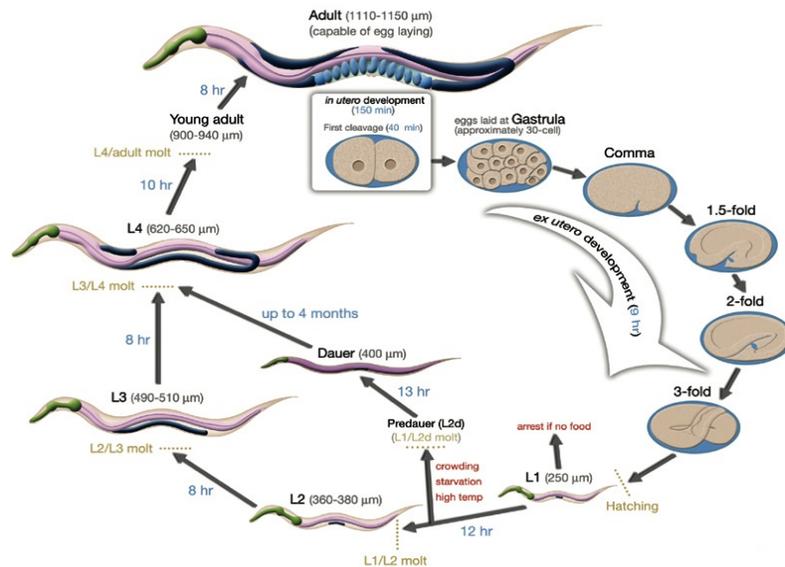
### Caenorhabditis elegans (*C.elegans*) :

Model de référence en biologie

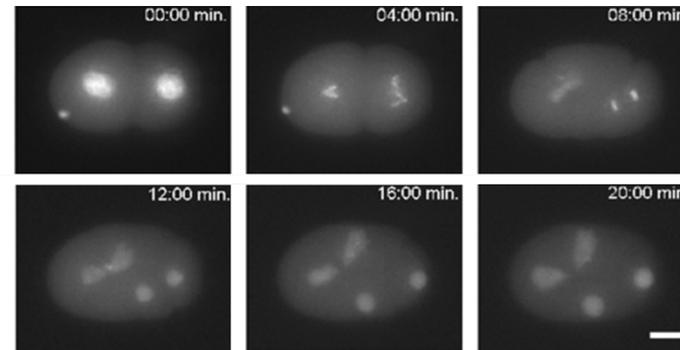
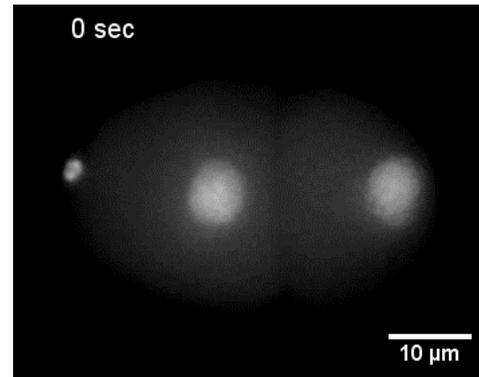
Caractéristiques:

- Nombre fixe de cellules (959 cellules)
- Transparent
- Facile à maintenir en culture
- Cellule divisée de la même manière, selon le même ordre chronologique, avec le même nombre et le même type de cellules filles

### Cycle de vie des *C.elegans*

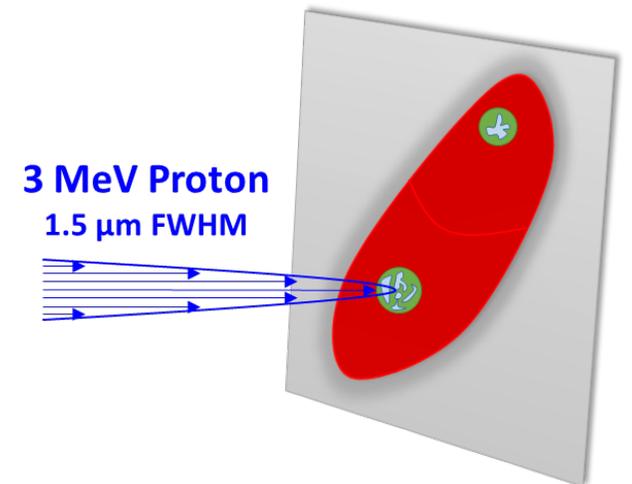


Vidéo microscopique d'un embryon  
contrôle stade 2 cellules en division



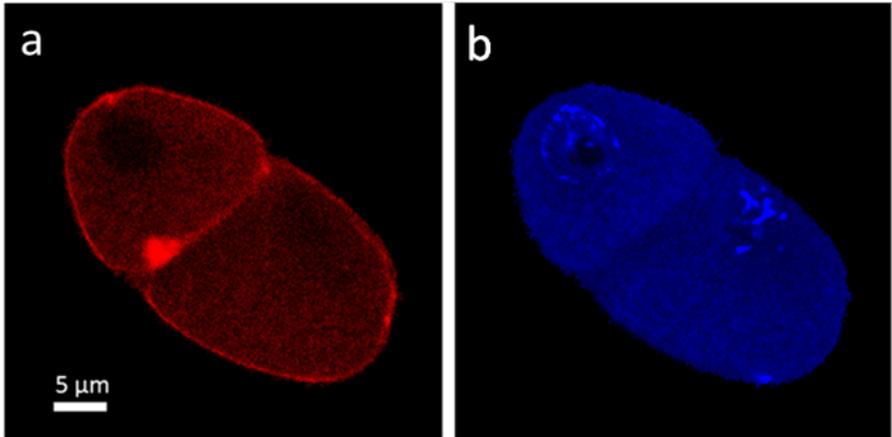
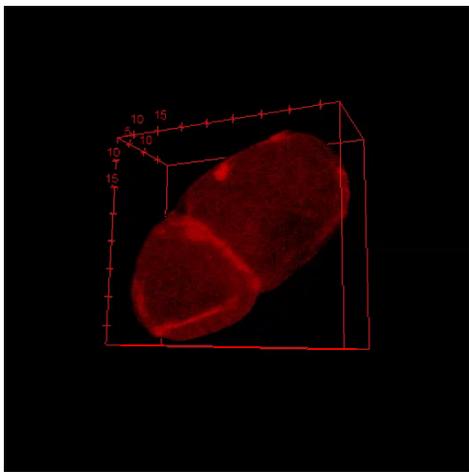
Formation d'aberration (point inter-chromosomiques)  
dans la chromatine en division

Représentation schématique du setup  
d'irradiation

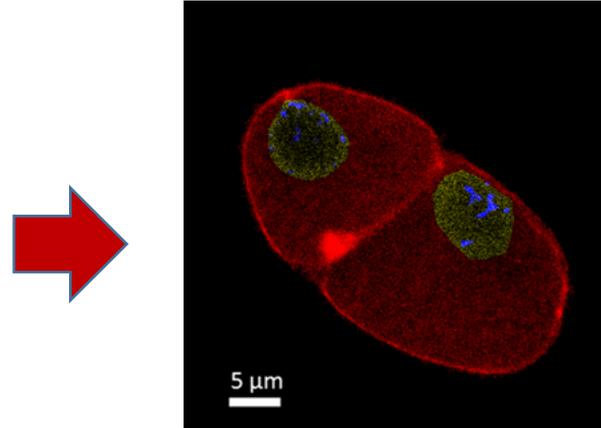


Dose/Energie délivrée au  
différents compartiments ?

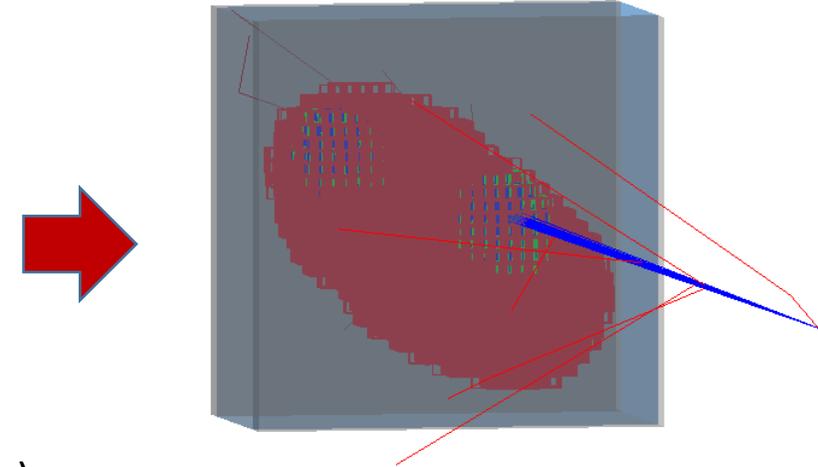
# Simulations des irradiations effectuées: Modélisation d'un embryon en fantôme réel



Acquisition images confocales d'embryon  
(en 3D) marqué en:  
a- Phalloïdine (rouge)  
b- Hoechst<sup>33342</sup> (blue)



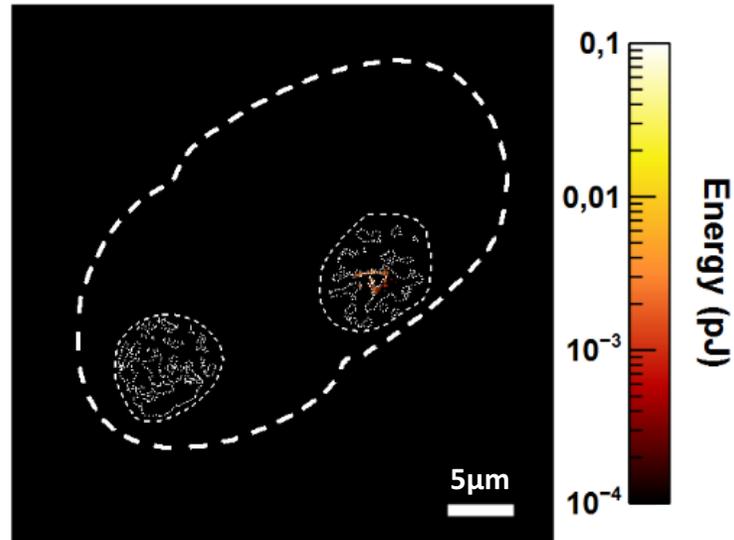
Définition de la **chromatine** (en bleu),  
l'**embryon** (en rouge) et les **volumes  
nucléaires** (en vert) en appliquant un  
seuil d'intensité (ImageJ)



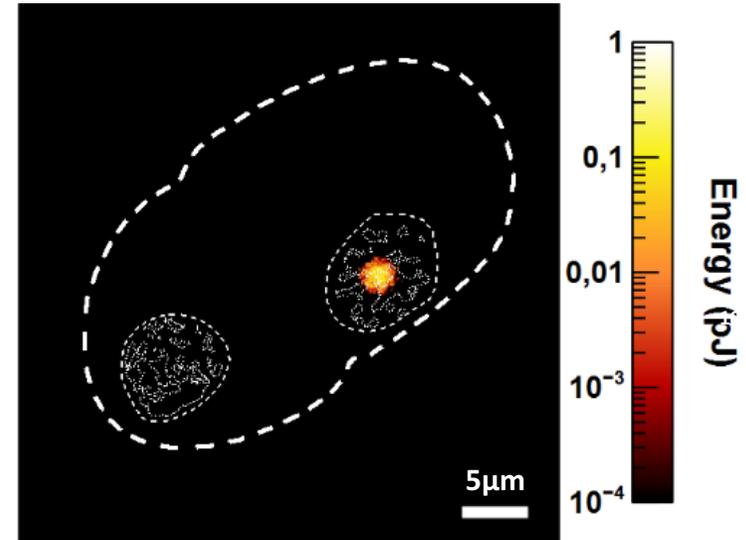
Fantôme d'un embryon  
faible résolution formé par  
des voxels implanté dans  
Geant4 et irradié avec des  
protons

# Simulations des irradiations effectuées: Modélisation d'un embryon en fantôme réel

## Distribution d'énergie dans la chromatine



## Distribution d'énergie dans tout l'embryon



- Energie déposée que dans le noyau irradié (1000p+)  
(nulle dans le noyau non irradié)
- Energie totale dans la chromatine 0,4 pJ
- Dose totale de 2,35 Gy dans l'embryon

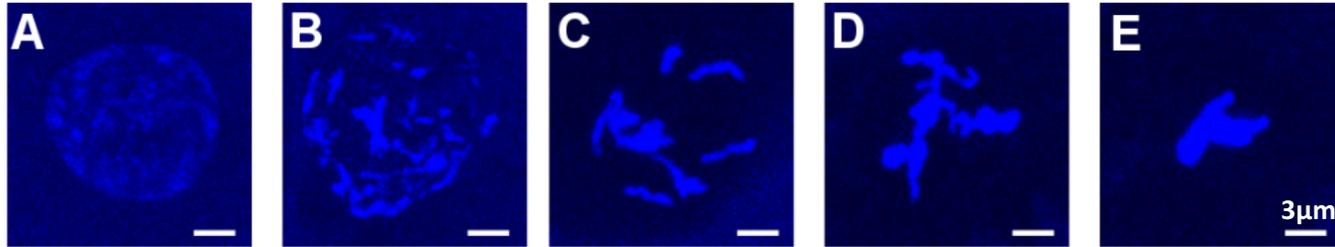
Variation suivant  
la forme de la  
chromatine



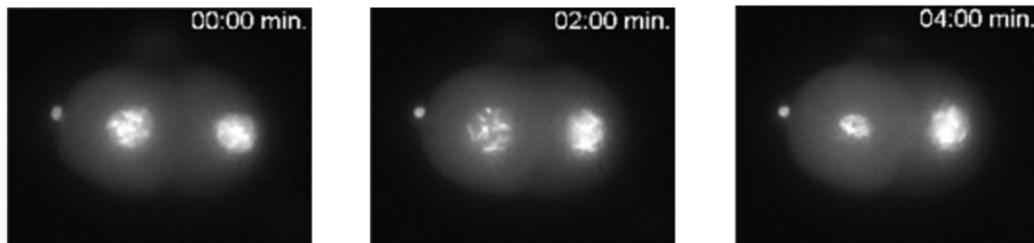
# Simulation de 40 cellules de *C. elegans* :

## Effet de la densité de la chromatine sur la distribution de l'énergie

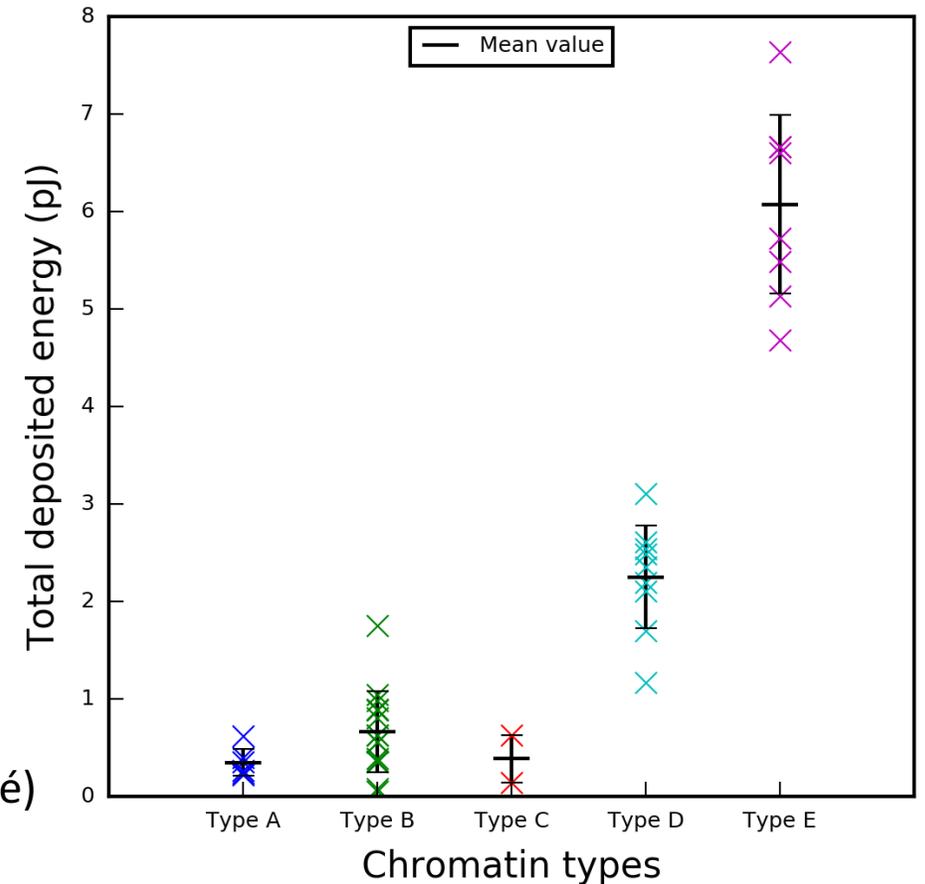
Les 5 types de chromatines identifiés à partir des images confocales



Première division cellulaire révélant la condensation de la chromatine au cours des étapes de la mitose



- Energie déposée dans la chromatine varie en fonction du type (sa densité)
  - Types (A, B et C) similaire et types (D et E) similaire
  - Dans notre cas -> pas d'effet
- Conditions d'irradiation correspondent à l'un des types A, B et C



**En cours .....**

# Conclusions

- Etude cinétique des protéines de réparation d'ADN
  - Irradiation avec  $\alpha$  et  $p$  des cellules GFP :: RNF8 -> réparation DSBs
  - Accumulation plus rapide avec  $\alpha$  que  $p$
  - $\alpha$  -> ++ DSBs    $p$  -> ++ SSBs
  
- Etude des effets radio-induits
  - Irradiation avec  $p$  d'embryons stade 2 cellules de C.elegans
  - Modélisation d'un fantôme réaliste d'embryons : Dépôt d'énergie dans différentes compartiments
  - Simulation de 40 cellules de C.elegans ayant différents stades Chromatiniens  
Effet de la densité de la chromatine sur la distribution de l'énergie  
En cours.....



### Remerciement pour tout le groupe iRiBio

- Hervé SEZNEC
- Philippe BARBERET
- Giovanna MUGGIOLU
- Guillaume DEVES
- Nathalie FAVRET
- Sébastien INCERTI
- Marina SIMON

# Merci de votre Attention

