

V. U. Mme Claire Stievenart
Av. A. Huysmans 206, bte 10
1050 Bruxelles-Brussel

ISSN - 0250 - 5010

ANNALEN
VAN
DE BELGISCHE VERENIGING
VOOR
STRALINGSBESCHERMING

VOL. 42, N° 4, 2017

1^e trim. 2018



Driemaandelijkse periodiek
1050 Brussel 5

Périodique trimestriel
1050 Bruxelles 5

ANNALES
DE
L'ASSOCIATION BELGE
DE
RADIOPROTECTION

Hoofdredacteur

Mr C. Steinkuhler
Rue de la Station 39
B- 1325 Longueville

Rédacteur en chef

Redactiesecretariaat

Mme Cl. Stiévenart
Av. Armand Huysmans 206, bte 10
B- 1050 Bruxelles - Brussel

Secrétaire de Rédaction

Publikatie van teksten in de Annales gebeurt onder volledige verantwoordelijkheid van de auteurs.

Nadruk, zelfs gedeeltelijk uit deze teksten, mag enkel met schriftelijke toestemming van de auteurs en van de Redactie.

Les textes publiés dans les Annales le sont sous l'entière responsabilité des auteurs.

Toute reproduction, même partielle, ne se fera qu'avec l'autorisation écrite des auteurs et de la Rédaction.

Annales de l'Association Belge de
Radioprotection (BVSABR)

Annalen van de Belgische
Vereniging voor
Stralingsbescherming (BVSABR)

Vol. 42/4/2017

SOMMAIRE

INHOUD

- Proton therapy evolution in the clinic: impact on radiation protection p. 145
T. DEPUYDT

C'était dans les Annales de l'ABR il y a 25 ans

Het stond in de Annalen van de BVS 25 jaar geleden :

- Radiosensibilité de l'embryon, introduction p.161
J. MAISIN
- L'être humain avant la naissance: du risque radiologique à la norme p.163
P. SMEESTERS
- Conséquences possibles pour l'embryon d'une irradiation en période
préimplantatoire p.177
P. JACQUET

PROTON THERAPY TECHNOLOGY EVOLUTION IN THE CLINIC: IMPACT ON RADIATION PROTECTION

T. Depuydt^{a, b}

^a*UZ Leuven, Department of Radiation Oncology and ParTICLE proton therapy,
Herestraat 49, Leuven, B3000, Belgium*

^b*KU Leuven, Department of Oncology, Laboratory of Experimental Radiotherapy,
Oude Markt 13, Leuven, B3000, Belgium; e-mail: tom.depuydt@kuleuven.be*

Abstract- Proton therapy (PT) as a treatment modality is becoming more widely spread in the conventional radiation therapy practice. Commercialisation and introduction of compact systems lead to embedding of PT facilities in existing hospital environments. Also technologically PT is currently going through an important evolution moving from passive scattering delivery techniques to active pencil beam scanning, adopting image guidance techniques from conventional radiotherapy and introducing various range verification techniques in the clinic. An overview is given of today's technological evolution of PT in clinical environments and its impact on aspects of radiation protection.

Keywords: Proton therapy; Radiation protection; Technology

1. Introduction

Over the last decade the number of proton therapy (PT) facilities is rising at an increased speed, from about 20 in 2007 to over 100 centres today. Even though the advantageous properties of a proton beam for radiation therapy have generally been accepted since its early application in the 1960s, commercial solutions for PT only became available at the end of the 1990s. The commercial availability, probably linked to the breakthrough of intensity modulated radiotherapy (IMRT) technology with photons at the

¹ This paper does not necessarily reflect the views of the International Commission on Radiological Protection.

end of the 90s and the belief that dose distributions would be even better with proton beams, triggered an elevated interest in PT. A high demand set into motion a process addressing a big hurdle in making this technology available to a large number of patients, namely its cost (Lievens et al., 2013). Technological development is focusing on making PT more efficient and versatile to serve a broader group of oncology patients with improved radiation therapy. Not only the technique to irradiate target volumes with a proton beam evolved, but also the layout of a PT facility is changing and its integration in existing hospital facilities. In this paper the impact of this evolution on stray radiation is considered, together with some other radiation protection aspects at the level of the patient, personnel and environment.

2. Delivery technology and nozzle design

A particle accelerator, be it a cyclotron or a synchrotron, delivers a narrow particle beam of typically a few millimetres in diameter. This narrow beam is transported through a beam-line to the treatment room where it is fed to the last part of the beam-line, the so called nozzle. The function of the nozzle is to change the properties of the beam in such a way that a target volume of a few centimetres up to a few tens of centimetres in diameter can be irradiated with a therapeutic high dose level while sparing surrounding tissue. The nozzle is a cascade of beam modifying devices and detectors. Depending on the technique used, its design and the production of secondary stray radiation are different. Proton therapy as a treatment modality is going through a transition between two delivery techniques currently, moving from passive scattering (PS) to pencil beam scanning (PBS).

Passive scattering has been the main delivery technology of the past two decades and is applied on the majority of patients treated with proton therapy today. The technique creates a wide proton beam making use of one or multiple scatterers, designed geometrically and in composition to produce a wide beam with homogeneous intensity. A commonly used design is double scattering using a cascade of two scatterers, applying a combination of high and low Z parts and using the differences in stopping and scattering power of protons of these materials to make use of all accelerated protons optimally and limit beam loss in beam shaping devices. In depth the fine Bragg peak is modulated, typically using a modulator

wheel, in a spread-out Bragg peak (SOBP) to form a plateau of high dose covering the largest dimension of the tumour in the direction of the beam axis. The beam is shaped to the target volume using treatment field specific apertures. These apertures are beam portal specific and are usually made from dense high Z materials to maximise stopping of protons in a short distance. Typically solid brass is milled or a low melting point metal alloy, such as cerrobend, is poured into a shaped mould. The combination of aperture and beam modulation is then completed with a field specific range compensator to align the distal edge of the SOBP dose distribution with the distal contour of the target volume.

This cascade of beam modifiers makes use of certain interactions of the proton beam with the materials of the devices. As well as the useful beam modifications resulting from these interactions on which the beam modifications are based, also a level of undesired effects take place which do not serve the purpose of targeted local dose distribution with protons. This leads to secondary stray radiation, mainly neutrons and X-rays which can not only deposit energy in the patient outside the targeted tissues, but can also lead to activation of the beam modifying devices, the environment and the patient. In PS the beam modification is performed in the nozzle, the last part of the beam-line just before the beam enters the patient which implies the presence of secondary radiation sources in close proximity to the patient. Research has been conducted to reduce the activation and secondary radiation levels by improving the design and replacing certain materials used in the nozzle (Moskvin et al., 2013). The presence of these devices in the proton beam is necessary in PS.

Active pencil-beam scanning (PBS) does not require scattering/flattening devices, compensators or beam shaping apparatus in the beam. The beam modifier cascade is replaced in the nozzle by a pair of scanning magnets. The scanning beam approach is applied to cover a target volume of up to tens of centimetres with a fine pencil beam, steering a large number of these beam spot dose depositions to a grid of locations in the target. The range of each beam spot is adjusted through energy-switching in the energy selection system (ESS) which can be placed upstream in the beam line at a considerable distance from the patient. PBS results in a considerably lower neutron background compared to passive scattering as the main source of secondary radiations is the interactions of the proton beam with the patients themselves which obviously is inevitable.

Even if PS is still the technology which has been used for the majority of patients treated with PT, new facilities today choose mostly PBS as a delivery technology. A large number of facilities initially treating with PS are currently upgrading their systems to PBS. The reason for this transition is not primarily the reduction in secondary cancer risk for patients due to lower stray neutron radiation dose in PBS compared to PS. It is generally accepted that the major component of secondary cancer risk is from in-field radiation rather than out-of-field stray radiation (Newhauser et al., 2015, NCRP 170, 2011). Most of the gain here is thus in the transition from photon radiotherapy to PT because of the additional healthy tissue sparing, as is illustrated in figure 1. The difference in total risk of secondary cancer moving from PS to PBS is estimated to be small. Nevertheless, striving toward a reduction in secondary neutron dose to the patient remains justified given the still incomplete knowledge of stray neutron exposures and secondary cancer induction.

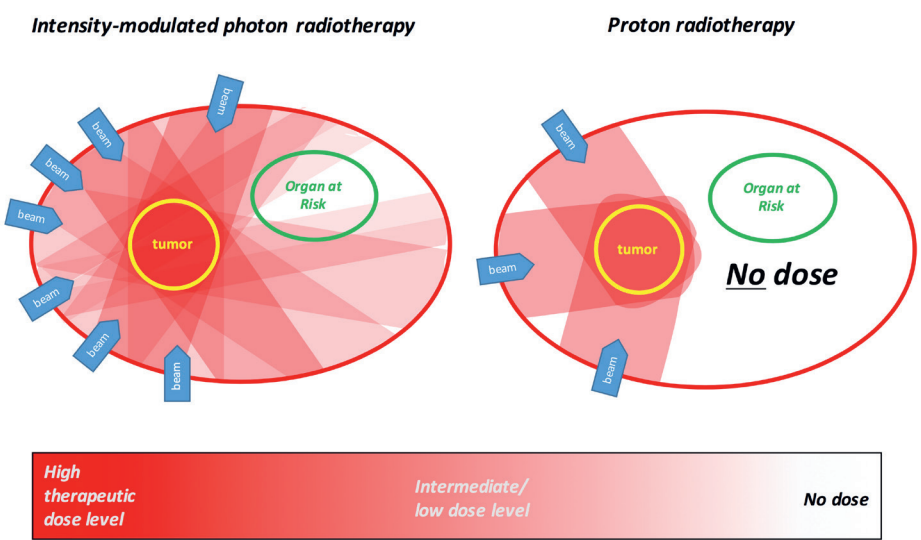


Fig. 1. Dose distributions are shown in the axial plane. Intensity-modulated photon therapy allows sparing of organs at risk but the exit dose of the photon beams results in exposure of large parts of the body. Proton therapy does not result in exposure of tissue downstream of the targeted tumour volume, improving in-field sparing of organs at risk there and resulting in no dose to these parts of the body.

What makes PBS definitely an attractive delivery technology in PT is its versatility and practical advantages over PS. PBS no longer requires patient

specific apertures and compensators. The patient-specific customisation of the treatment plan can be achieved fully by weighting the scanned pencil beam spots and no patient specific hardware is required. Using PS as a delivery technique requires setting up and maintaining a hardware workshop on-site. Even if PS with its wide beam delivery is more efficient at the level of dose deposition speed, manual replacing patient specific hardware for every field is required, introducing delays in the workflow. As the apertures and compensators are in the proton beam they will be activated which complicates storage and manipulation by the therapy personnel. Due the large variety of PT system designs these activations have not been studied extensively and very little data seems to be available on occupational exposure to clinical staff. Compensators made of Lucite or wax have been reported to decay to background in about 2 hours, more than the typical treatment delivery times of 30 to 45 min. Activated brass apertures require longer cooling and are kept in secured storage over several months before being sent for scrap (Spitznagel et al., 2014, Moskvin et al., 2013).

A major advantage of PBS compared to PS PT is the improved quality of the dose distribution. As the SOBP modulation is fixed per treatment field and is determined based on the largest cross-section of the target volume in that beam direction, some tissues proximal to the target will receive the same dose as the target volume itself. In PBS this can be avoided and the dose to these tissues can be reduced. A step further, making optimal use of the degrees of freedom provided by PBS is intensity modulated proton therapy (IMPT) using Multi Field Optimization (MFO). Studies have shown that applying this technique, moving away from the concept of delivering a homogeneous dose to the target with each individual treatment field (Single Field Optimization or SFO), results in improved sparing of critical organs compared to SFO and PS approaches (Lomax et al., 2001, Cozzi et al., 2001, Welsh et al., 2011). To treat moving tumours with PT, interplay effects of tumour motion and the PBS scanning sequence can reduce dose distribution quality. Techniques to overcome interplay effects are being studied extensively (Knopf et al., 2010) and are finding their way into clinical PT practice.

3. Compact layout systems

After the initial commercialisation of proton therapy systems in the 90's the industry is moving into a next phase by developing compact PT systems. The main goal is definitely commercial, to reduce the total investment cost per PT project and make it accessible to more potential customers. The reduction in project investment cost goes typically from >100M€ projects to <50M€ projects for compact systems. Budgets of up to 50M€ come within reach of large hospitals and no longer require large national programs to finance them. However, next to these financial implications, compact systems have an impact on the field of PT in other ways.

The footprint of compact systems is considerably smaller than the large multi-room facilities. Using a sports field metaphor the large multi-room facilities require typically a football field, while the compact solutions fit on a tennis or basketball court. The compact systems are developed as units including a dedicated accelerator, mostly compact cyclotrons, directly connected to a gantry. To further reduce the size of the systems the gantries are made smaller for example by limiting rotation to a 200° instead of the full 360° range, or by placing scanning magnets upstream before the last bending magnet instead of inline with the nozzle. Multiple compact units can even form a scalable multi-room facility with each room having its own cyclotron. However, at some point a single accelerator serving multiple treatment rooms becomes more cost effective in terms of maintenance and resources.



Fig. 2. The evolution of proton therapy centres from a by-product of large nuclear physics research facilities over large stand-alone facilities toward facilities embedded in existing hospital environments.

A smaller PT system also better fits and integrates in existing hospital facilities. The early radiotherapy with protons usually was a by-product of large nuclear research facilities providing particle beams. After the commercialisation of PT in the 90's up until a few years ago, the leading trend was to build large stand-alone multi-room facilities. The main purpose of these facilities was the medical application of PT although some of them were not in close proximity to a hospital and had on-site medical imaging facilities for treatment planning and follow-up. The compact PT systems can more easily be placed adjacent to existing hospitals and radiation oncology departments which allows an elevated level of integration as a "fully embedded" facility (Fig. 2). In this way, PT will be seen as an additional modality for the radiotherapy clinic rather than a separate facility. Part of the preparatory workflow can be shared between PT and state-of-the-art photon radiotherapy. Having more of these combined facilities, where the same medical team has access to both modalities, is important in the process of seeking the right balance between the justified application of PT and using the more cost-effective advanced photon treatments, by applying objective evidence based methods (Langendijk et al., 2013). Many hospital embedded proton therapy centres are providing research facilities for physics and biology which, in a way, is reversing how PT originally started as a research facility by-product (Fig. 2).

The smaller footprint of compact PT systems does have implications for the shielding design. A compact gantry with limited gantry rotation range of typically 200° will require a more asymmetric shielding in the allowed beam direction than a 360° gantry where the beam orientation is distributed evenly between both sides. The wall thickness might also be larger in compact systems than in large facilities to reach public area limits at the outer shell because the distances between the radiation sources and the walls are smaller and thus there is no benefit from the dose reduction with distance for radiation protection. Because the walls can be much closer to the cyclotron than in a large facility, the neutron fluence reaching the wall surface is higher. Thus, the specific activity of the long-lived isotopes such as Eu^{152} or Co^{60} will be larger after 20 years of operation. As the characterisation of nuclear waste is based upon the specific activity, a larger amount of potential low-level nuclear wastes results from a compact system than from a large multi-room system even if the beam usage is lower. In order to address this issue PT vendors are looking into "low-

activation concrete” solutions to solve the problem in the compact systems, while the problem is less of an issue for the large footprint facilities.

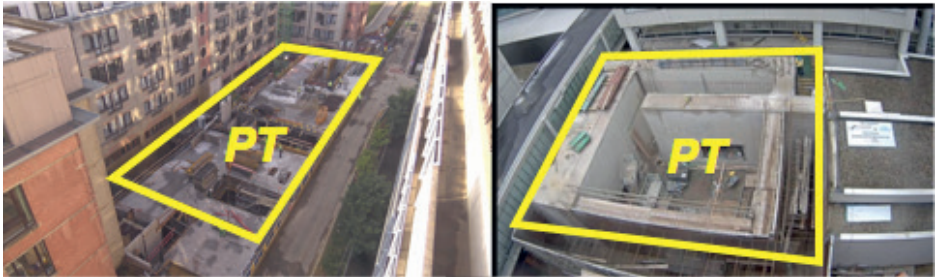


Fig. 3. Ongoing construction sites of two compact PT systems embedded in existing hospital facilities (a) ParTICLE at UZ Leuven, Leuven, Belgium and (b) ZONPTC at MAASTRO Clinic, Maastricht, The Netherlands.

In compact PT systems, some radiation sources are closer to the patient than in the larger multi-room systems. An important source of secondary radiation, the ESS is located in the treatment room while multi-room systems have this component further upstream at larger distances. The principle of an ESS is to let the beam interact with a low-Z material of variable water equivalent thickness (WET) to reduce the energy of the protons by inelastic interactions. To re-establish a narrow energy spread after a widening of the spectrum due to range straggling, the beam is bent in a magnetic field followed by a passage through a movable momentum slit. Here again the proton beams interact with the materials of the ESS and result in neutron production. Some increase in neutron exposure can be expected when parts of the ESS, the divergence and momentum slits, are located inside the treatment room which is the case for the IBA ProteusONE compact system. Secondary neutron scatter from the walls in the smaller vaults of compact facilities could potentially lead to an increase in the neutron dose for the patient as well, compared to usually larger vaults in multi-room facilities.

The commercial solution of the company Mevion is to have a small cyclotron mounted on the gantry directly, not requiring any bending to point the pencil beam directly at the gantry rotation isocentre. The energy selection is performed without bending the beam only based on energy

degradation in a cascade of carbon slab range shifters in the nozzle, from 230 MeV to the desired energy (down to 70 MeV), in close proximity of the patient. It is claimed, however, that this setup without beam-line can be run at lower proton beam currents, because of the lower beam losses in energy selection, which reduces secondary neutron source intensity. This way of energy selection, however, can impact the proton beam characteristics. Howell et al. (2016) and Chen et al. (2013) have reported similar secondary neutron dose levels using this compact system compared to other proton beamlines for PS. Stichelbaut et al. (2014) performed a Monte Carlo simulation study investigating secondary neutron dose levels comparing the Mevion solution for PBS mode with the IBA ProteusONE compact system. They concluded that the secondary cancer risk did not increase for ProteusONE but did increase by a factor of 3.74 for the gantry-mounted cyclotron with range-shifter-only energy selection, compared to a large multi-room layout facility using PBS.

4. In-room Imaging and treatment verification

Limitation of volumes exposed to high therapeutic levels of dose outside the actual tumour is an aspect of patient related radiation protection. Uncertainties in the dose delivery process and anatomical/positional changes of the patient have traditionally been addressed in advanced photon therapy by including safety margins around the volume irradiated at full therapeutic dose levels. Even if the value of the margin concept as such for PBS PT is currently a debated issue, a level of robustness of the treatment plan delivery is usually accomplished by a exposure of surrounding tissues to assure coverage of the target volume. This additional exposure can be reduced by minimising the uncertainties in the treatment delivery process. Proton range uncertainties (Paganetti, 2012) and anatomical changes during the course of treatment are identified as the main uncertainty components. PT is considerably more sensitive to anatomical changes of/in the patient than IMRT or volumetric arc X-ray therapy (VMAT). Nevertheless, image guidance in PT was not at the level of state-of-the-art photon therapy. The fact that PT is moving gradually into main stream radiation therapy also results in more cross-talk with state-of-the-art photon radiotherapy. Up to a few years back mainly X-ray images and image registration based on bony structures were used. Most indications typically treated with PT in the past indeed were targets where bony structures could be used as fiducial

surrogates for tumour position. For more than a decade, image-guided radiation therapy (IGRT) in advanced photon therapy is performed using the soft tissue information of on-board cone-beam CT volumetric imaging. The first clinical application of on-board cone-beam CT in PT dates from 2016. The additional patient dose of the volumetric imaging acquired with cone-beam CT on an in-room CT on-rails is typically several cGy. Similar to advanced photon therapy, in PT the balance between the value of daily volumetric imaging to reduce uncertainties in the process and the additional imaging exposure has to be found. Probabilistic planning (Unkelbach et al., 2009) and adaptive radiotherapy (Yan, 1997) where anatomical changes are compensated for by modifying the treatment plan regularly to re-establish clinical goals will most probably become the preferred methodologies to reduce the impact of uncertainties in PT.

The inevitable secondary radiation and activation generated in the patient during PT delivery have also led to useful applications in treatment delivery verification (Knopf et al., 2013). As a consequence of in-elastic nuclear interactions of the protons traversing, a range of short-lived isotopes are created. In human tissues predominantly O^{15} and C^{11} , with half-lives of respectively 2 and 20 minutes respectively, are produced and through a β^+ -decay emit a characteristic positron. The annihilation 511 keV gamma ray pair can be captured using a PET-camera (Vynckier et al., 1993, Parodi et al., 2000). The captured signal intensity is related to nuclear interactions and does not directly show deposited dose by the proton beams as such, but in vivo proton range can be inferred. The nuclear interactions with protons also leave many nuclei of patient tissues in an excited state. They decay very rapidly by emitting neutrons or prompt gammas, with half-lives of 10^{-19} - 10^{-9} seconds. Prompt gammas have a wide energy spectrum, mainly between 0 and 7 MeV, with a few characteristic rays of the nuclei that are present or produced in the target. Stichelbaut and Jongen (2003) proposed to measure those gammas leaving the patient to deduce the proton range in vivo. Both the prompt gamma imaging (PGI) and PET-in-vivo technique have been demonstrated in clinical PT practice (Nischwitz et al., 2015, Xie et al., 2017).

5. Discussion/Conclusion

After its commercialisation in the 90's, PT technology is taking its next step toward becoming a mainstream radiation therapy modality. State-of-the-

art delivery systems have become compact units making use of a versatile delivery technology. PBS reduces secondary stray radiation in comparison to PS and does not require beam shaping and modification devices which can be activated. For radiation protection of the patient and personnel this can be considered an advantage, even when knowledge of stray neutron exposures and secondary cancer induction is incomplete, and very little data on occupational exposure to clinical staff is available. Standardisation of technological solutions, like PBS compact system units, will not only reduce the cost of PT but also facilitate the acquisition of more generally usable radiation protection data. Compact PT systems show differences with the large multi-room facilities in terms of activation and in stray radiation, depending on the technology used. Further investigation is required to quantify the impact of these differences on radiation protection. Compact PT systems can be embedded in existing hospital and radiation therapy facilities which can be important in finding the balance for justified use of PT compared to conventional and more economical radiotherapy techniques. Technology to reduce the impact of delivery uncertainties and anatomical changes are currently being developed, implemented and to some extent adopted from the advanced photon therapy IGRT.

6. Acknowledgements

The author would like to thank Frédéric Stichelbaut, Geert Bosmans, Perjan Pleunis and Carles Gomá for their input.

7. References

1. Lievens Y, Pijls-Johannesma M., 2013 Health Economic Controversy and Cost-Effectiveness of Proton Therapy. *Sem Rad Onc* 23 p134-141
2. Moskvina V, Cheng C, McDonald M et al. 2013 Reduced Secondary Neutrons and Occupational Exposure With Optimization of Beam Shaping Device Material in Proton Therapy. *IJROBP* 87 poster 1096
3. Newhauser W, Zhang R, 2015 The physics of proton therapy *Phys Med Biol* 60 R155-209
4. NCRP, 2011, SECOND PRIMARY CANCERS AND CARDIOVASCULAR DISEASE AFTER RADIATION THERAPY. NCRP Report No. 170
5. Spitznagel et al. 2014 SU-E-T-590: An Activation Study of Materials and Devices Present in a Proton Treatment Room. *Med Phys* 41 p363
6. Lomax A, Boehringer T, Coray A, et al. 2001 Intensity modulated proton therapy: A clinical example. *Med Phys* 28 p317-324
7. Cozzi L, Fogliata A, Lomax A, et al. 2001. A treatment planning comparison of 3D conformal therapy, intensity modulated photon therapy and proton therapy for treatment of advanced head and neck tumours *Radiother Oncol* 61 p287-297
8. Welsh J, Gomez D, Palmer M et al. 2011. Intensity-Modulated Proton Therapy Further Reduces Normal Tissue Exposure During Definitive Therapy For Locally Advanced Distal Esophageal Tumors: A Dosimetric Study. *IJROBP* 81 p1336-1342
9. Knopf A, Bert C, Heath E, et al. 2010. Special report: Workshop on 4D-treatment planning in actively scanned particle therapy—Recommendations, technical challenges, and future research directions *Med Phys* 37 p4608-4614
10. Langendijk J, Lambin P, De Ruyscher D et al. 2013. Selection of patients for radiotherapy with protons aiming at reduction of side effects: The model-based approach. *Radiother Oncol* 107 p267-273
11. Howell R, Burgett E, Isaacs D, et al. 2016. Measured Neutron Spectra and Dose Equivalents From a Mevion Single-Room, Passively Scattered Proton System Used for Craniospinal Irradiation. *IJROBP* 95 p249-257
12. Chen K, Bloch C, Hill P, et al. 2013. Evaluation of neutron dose equivalent from the Mevion S250 proton accelerator: measurements and calculations. *Phys. Med. Biol.* 58 p8709–8723
13. Stichelbaut F, Closset M, Jongen Y et al. 2014 Secondary Neutron Doses In A Compact Proton Therapy System. *Radiation Protection Dosimetry* 161 p368–372
14. Paganetti H 2012. Reducing the sensitivity of IMPT treatment plans to setup errors and range uncertainties via probabilistic treatment planning. *Phys Med Biol* 57 R99-R117

15. Unkelback J, Bortfgld T, Martin B et al. 2009. Reducing the sensitivity of IMPT treatment plans to setup errors and range uncertainties via probabilistic treatment planning. *Med Phys* 35 p149-163
16. Yan D 1997. Adaptive radiation therapy. *Phys. Med. Biol.* 42 p123-132
17. Knopf A, Lomax A. 2013. In vivo proton range verification: a review. *Phys. Med. Biol.* 58 R131–R160
18. Vynckier S, Derreumaux S, Richard F, et al. 1993. Is it possible to verify directly a proton-treatment plan using positron emission tomography? *Radiother Oncol* 26 p275-211
19. Parodi K, Enghardt W 2000. Potential application of PET in quality assurance of proton therapy. *Phys Med Biol* 45 N151-N156
20. Stichelbaut F and Jongen Y. 2003. Verification of the proton beam position in the patient by the detection of prompt gamma-rays emission. 39th Meeting of the Particle Therapy Co-Operative Group (San Francisco, CA)
21. Nischwitz S, Bauer J, Welle T et al. 2015. Clinical implementation and range evaluation of in vivo PET dosimetry for particle irradiation in patients with primary glioma. *Radiother Oncol* 115 p179-185
22. Xie Y, Bentefour EH, Janssens G et al. 2017. Prompt Gamma Imaging for In Vivo Range Verification of Pencil Beam Scanning Proton Therapy. *IJROBP* 99 p210-218

Annales de l'Association belge de Radioprotection, vol.42, n°4, 2017
Annalen van de Belgische Vereniging voor Stralingsbescherming, vol.42, nr 4, 2017

**C'ÉTAIT DANS LES ANNALES DE L'ABR
IL Y A 25 ANS**

**HET STOND IN DE ANNALEN VAN BVS
25 JAAR GELEDEN**

RADIOSENSIBILITE DE L'EMBRYON INTRODUCTION

J. Maisin *

** Jean René Maisin, membre de BVSABR de 1963 à 2000 est décédé le 19 janvier 2018*

Texte de l'exposé du 19 mars 1993

Chers collègues,

L'Association Belge de Radioprotection a eu une excellente initiative d'organiser la réunion d'aujourd'hui sur la radiosensibilité de l'embryon. L'embryon a toujours été reconnu comme étant particulièrement radiosensible. C'est pourquoi la femme enceinte au travail est soumise à des normes très strictes.

La réunion d'aujourd'hui vient à son heure car ces dernières années des observations intéressantes ont été publiées sur la radiosensibilité de l'embryon, embryon qui est peut-être encore plus radiosensible que ce que l'on pensait. Je ne citerai que deux exemples :

De nombreux chercheurs étaient persuadés que l'irradiation d'un embryon avant son implantation dans la paroi utérine, c'est-à-dire lorsqu'il n'est composé que par un petit nombre de cellules non spécialisées avait comme seule conséquence la non-implantation de l'embryon et sa mort subséquente.

Aujourd'hui, il semblerait qu'il n'en soit pas ainsi et que certains de ces embryons pourraient survivre et présenter des malformations.

Le deuxième exemple est l'effet des rayonnements ionisants sur le cerveau humain en voie de développement prénatal. Parmi les survivants des bombardements atomiques d'Hiroshima et de Nagasaki qui ont subi une

exposition prénatale, on a constaté une incidence plus élevée d'oligophrénie profonde. Ce sont les embryons qui ont été irradiés à l'âge de 8 à 15 semaines, c'est-à-dire lors de la plus grande prolifération des neurones et leur migration vers le cortex cérébral qui sont les plus radiosensibles. Je pourrais encore vous citer bien d'autres exemples mais j'espère que les deux exemples retenus vous auront montré le grand intérêt de cette session sur la radiosensibilité de l'embryon.

Je passe sans tarder la parole au premier conférencier de cet après-midi, le Dr Smeesters du SPRI qui nous parlera de l'être humain avant la naissance : du risque radiologique à la norme.

L'ETRE HUMAIN AVANT LA NAISSANCE: DU RISQUE RADIOLOGIQUE A LA NORME.

P. Smeesters *

Service de protection contre les radiations ionisantes, Ministère de la Santé
publique et de l'Environnement, Bruxelles

** Patrick Smeesters, membre de BVSABR depuis 1988, président en 2015-2016 est actuellement
président de la section Rayonnements Ionisants du Conseil Supérieur de la Santé*

Texte de l'exposé du 19 mars 1993

Résumé

Tout en passant en revue les débats scientifiques actuels relatifs à l'évaluation des risques liés à l'irradiation in utero et en décrivant l'évolution des recommandations internationales et des projets de réglementation en matière de protection de l'enfant à naître, l'exposé s'attache à mettre en évidence l'interférence omniprésente de questions ou d'enjeux d'ordres parfois épistémologique, souvent culturel, presque toujours éthique.

1 .L'APPROCHE SUIVIE

L'exposé s'intitule : « du risque radiologique à la norme : l'être humain avant la naissance ». Il aurait pu s'appeler : « risques de l'irradiation in utero » et tenter de broser une synthèse des connaissances, à la lumière des publications de la Commission Internationale de Protection Radiologique (CIPR) ou du Comité scientifique des Nations Unies (UNSCEAR) ou d'autres travaux scientifiques réputés.

Il aurait pu avoir pour titre : « évolution des normes de protection radiologique des embryons et fœtus » et faire le point sur les travaux réglementaires aux plans belge, européen et international. Mais les normes doivent s'appuyer sur un état des connaissances et, inversement, la recherche doit au moins en partie s'articuler avec une demande opérationnelle et surtout, la réalité ne se laisse pas enfermer dans le paradigme d'une seule discipline : le problème qui nous occupe nous interpelle tant sur la qualité

de notre approche scientifique que sur la correction des conclusions que nous en tirons. Et derrière le mot même de «correction» employé ici, apparaissent déjà en filigrane la notion de «bien», les enjeux éthiques, la pierre d'achoppement que constitue la hiérarchie et les conflits de valeurs.

C'est pour mettre cela en évidence que les mots « utérus » et même « foetus » ou « embryon » ont été écartés dans le titre de cet exposé, au profit des termes « l'être humain avant la naissance ». Qu'on le veuille ou non, nous touchons là à un thème qui, pour beaucoup (et pour moi-même), relève d'un autre domaine du savoir, celui qui touche au sacré ou, si l'on veut, aux questions fondamentales de l'origine et du sens de la vie elle-même. Pour notre part, nous tâcherons de ne pas éluder ces questions et de nous mouvoir dans cette problématique avec, pour reprendre un mot célèbre, « les pieds sur terre et la tête dans les étoiles ».

C'est ainsi que, si nous brancherons les projecteurs, avec acuité, sur les débats scientifiques puis, brièvement, sur les normes en gestation, nous en profiterons pour mettre en lumière quelques enjeux « d'un autre ordre ».

2. DES CONNAISSANCES SCIENTIFIQUES EN MOUVEMENT : UNE GESTION DIFFICILE

D'emblée, une mise au point : que les connaissances scientifiques évoluent, c'est une lapalissade. Le problème n'est pas là. La difficulté, c'est que nous devons arriver à évoluer -et à réévaluer- en même temps et cela, ce n'est pas gagné d'avance...

Si nous faisons un sondage rapide dans le monde médical intéressé aux radiations ionisantes ou chez les divers experts du domaine de la radioprotection, et que nous leur demandions de résumer en quelques lignes le risque radiologique avant la naissance, voilà probablement ce que nous entendrions dans l'ensemble, avec bien sûr d'inévitables variantes : pas de danger dans les stades très précoces, car l'irradiation un effet « tout ou rien », « tout » signifiant ici la mort ; peu de danger dans les premières semaines, vu le seuil élevé, de l'ordre de 20 cGy, pour la tératogenèse; un problème sérieux au moment de la formation des structures cérébrales, mais avec des échos scientifiques récents tout à fait rassurants dans le domaine des doses de l'ordre de quelques cGy ou moins; un risque de

cancer radioinduit, même aux doses du domaine du radiodiagnostic, mais ce risque est relativisé par les nombreux débats et contestations que sa mise en évidence a suscités et est dès lors perçu comme douteux ; pour le reste, rien de très sérieux.

Toutes ces choses que nous entendrions ne sont pas toujours fausses, loin de là, mais elles ne sont pas toujours vraies non plus : elles manquent surtout de nuances et de prudence. Elles sont comme le résultat d'une décantation, processus dans lequel notre connaissance tend naturellement à se « lisser », à s'élaguer, à se débarrasser d'encombrantes nuances et attend pour évoluer des signaux redondants et préalablement amplifiés par d'autres. Sans prétendre à l'exhaustivité, nous tâcherons d'ajouter quelques branches à notre « arbre de connaissance ».

3. LES PREMIERES SEMAINES DE LA GROSSESSE.

Les premières semaines de grossesse, autrefois objet de toutes les sollicitudes, sont aujourd'hui considérées par beaucoup comme peu inquiétantes sur le plan de la radioprotection. Cette impression, avec son corollaire immédiat de démotivation en matière de mesures de protection, est-elle fondée sur des bases valables?

Pour ce qui est de la phase toute précoce de préimplantation, la CIPR, dans sa publication 60, décrit uniquement la possibilité d'effets létaux, et ce déjà pour une dose de 10 cGy; elle se base d'ailleurs sur les données de l'UNSCEAR (1986 Report), pour qui des effets tératologiques radioinduits n'ont pas été décrits.

Un document rédigé par un groupe de consultants pour le compte de l'AEN et relatif aux bases biologiques pour le contrôle de l'irradiation prénatale confirme ces données, tout en mentionnant une exception possible pour certaines souches animales avec une labilité génétique particulière et en signalant que le seuil d'inactivation in vitro des blastomères de souris peut descendre à 5 cGy (Rx ou Gamma) et qu'au bilan on ne peut exclure un seuil assez bas chez l'être humain pour les mortalités embryonnaires précoces. Les auteurs suggèrent que ces faits sont cependant de peu de gravité vu le taux très élevé d'avortements spontanés à ce stade. Qu'on me

permette de souligner au passage le fait qu'on ne peut éviter ici la question de la justification éthique d'une telle prise de position.

Par ailleurs, est-il vraiment exact que l'on puisse affirmer, aujourd'hui, le caractère tout ou rien des effets au stade de préimplantation et que l'on puisse exclure la possibilité d'effets tératogènes à connotation stochastique. Nous écouterons avec intérêt ce que les orateurs suivants, spécialisés dans cette question, ont à nous dire à ce propos.

Je me contenterai de me référer ici aux publications disponibles sur la base desquelles il me paraît qu'une salutaire prudence aurait déjà dû voir le jour.

Remarquons que c'est dans ce contexte actuel que les mesures de protection pour les femmes en état de procréer disparaissent des recommandations internationales et des règlements en préparation.

Pendant la phase suivante de la grossesse, celle de l'organogenèse, la CIPR 60 relève le risque de malformations radioinduites et signale que des seuils de dose ont été observés pour ces effets chez le rat et la souris et que des seuils similaires pourraient exister chez l'homme.

Pour la valeur chiffrée de ces seuils, la CIPR 60 renvoie à UNSCEAR 1986 (table 15, annexe C) où la valeur minimale pour les grosses malformations reconnaissables est estimée à 25 cGy.

Il est intéressant de noter que la question du risque de malformation radioinduite n'est même pas mentionnée dans un document de synthèse sur les effets radioinduits publié par le NRPB en 1988 et qu'elle est à peine effleurée dans le rapport publié en 1990 par le Comité BEIR de l'Académie des Sciences des Etats-Unis (BEIR V).

Pourtant, la lecture attentive du rapport AEN 1988 n'incite pas à autant d'optimisme. Les auteurs distinguent ainsi, au sein de l'organogenèse, les périodes d'induction et de différenciation. Pendant la période d'induction, la capacité embryonnaire de régénération et de réorganisation est assez grande mais les lésions radioinduites sont sérieuses (anencéphalie, exencéphalie,...). Le pronostic en terme de malformation à la naissance dépend du degré de sélection intrautérine, c'est-à-dire de la tendance à avorter, à éliminer les embryons malformés. Or, les auteurs citent d'une part un seuil de dose pour les effets radioinduits pendant cette période

d'induction de 5 cGy seulement (contre 10 à 25 cGy pour la période de différenciation) et d'autre part, ils relèvent que le degré de sélection intrautérine peut varier selon les populations étudiées. D'une façon plus générale, le rapport souligne le rôle que pourraient jouer la variabilité biologique des populations et le caractère insuffisant des données, notamment humaines, relatives aux courbes dose-réponse dans le domaine de la tératogenèse.

Ici encore, le simple fait de retourner aux sources, de renuancer, de «rebrancher» les connaissances, permet d'avoir une idée plus juste du risque qui, ici, même s'il n'est plus à la mode, est moins négligeable qu'on ne tend à le croire actuellement, ce qui justifie, à mon sens, le maintien de certaines précautions, notamment en radiologie, où les doses ne sont pas toujours si éloignées de la valeur de 5 cGy.

4. LES EFFETS SUR LE SYSTEME NERVEUX CENTRAL EN DEVELOPPEMENT.

D'abord un bref rappel des faits, désormais bien connus.

Parmi les 1.544 individus inclus dans l'échantillon des survivants de Hiroshima et Nagasaki ayant subi une irradiation prénatale, on a observé 30 cas de retard mental sévère, c'est à-dire d'incapacité de réaliser des calculs simples, de tenir une conversation simple et de prendre soin d'eux-mêmes. Le risque n'est pas apparent avant 8 semaines (entendez 8 semaines après la conception), soit parce qu'il n'existe pas, soit parce que les lésions radioinduites n'autorisent pas la survie jusqu'à l'âge où le retard mental peut s'observer. Le risque est maximal de la 8ème à la 15ème semaine et peut être correctement décrit par une courbe dose-réponse linéaire ou linéaire - quadratique avec un coefficient de 40 % Gy⁻¹ ; de la 16ème à la 25ème semaine, le risque diminue (10 % Gy⁻¹) et un seuil semble exister (de l'ordre de 50 cGy).

Selon la CIPR 60, l'utilisation de la nouvelle dosimétrie (DS 86) et l'élimination de cas de retard mental dont la radioinduction est improbable (mongolisme, suites d'encéphalite, ...) a permis de «démontrer» que la relation dose-effet avec seuil (de l'ordre de 12 à 20 cGy) est plus probable que la relation linéaire sans seuil. Les auteurs rajoutent que cette dernière relation était « *a priori* » (en italique dans le texte) improbable vu « la nature supposée déterministe du phénomène considéré ». Pour rappel,

le mécanisme présumé est un décalage radioinduit uniforme de la courbe de quotient intellectuel, décalage relié à la dose et évalué à 30 points QI par Sv. Les observations relatives à l'apparition de retard mental et à la diminution du QI sont de plus mathématiquement compatibles.

L'avis du Comité BEIR (BEIR V), basé sur les mêmes données, est moins catégorique. Sans exclure la possibilité d'un seuil de dose pour le retard mental, le Comité relève que, d'une part, sur le plan statistique, l'utilisation du modèle linéaire avec seuil aboutit à prédire un effet des hautes doses plus important que celui qui est réellement observé et que, d'autre part, la sélection clinique arbitraire d'un niveau de retard mental sévère dichotomise la distribution des niveaux d'intelligence et pourrait conduire à un seuil apparent pour cet effet.

Dans une publication récente de la CIPR (1991) consacrée aux risques associés aux radiations ionisantes, SCHULL tend à relativiser également de façon nette les affirmations contenues dans la CIPR 60. Ses conclusions méritent d'être citées in extenso : «Vu les incertitudes concernant la véritable relation dose-effet, c'est une affaire de jugement que de savoir si les recommandations devraient être basées sur l'hypothèse qu'un seuil existe ou sur l'hypothèse inverse. Ni les données épidémiologiques, ni les données expérimentales, ni les considérations théoriques radiobiologiques n'apportent un argument décisif en faveur de l'une ou de l'autre hypothèse». Selon SCHULL, les données observées peuvent être décrites aussi bien par un modèle linéaire que par un modèle linéaire - quadratique mais l'existence d'un seuil, quoique possible dans l'hypothèse linéaire - quadratique, est contredite, dans le cas du modèle linéaire, par les observations faites dans le domaine des hautes doses : tout fœtus exposé à plus d'1 Gy devrait souffrir de retard mental sévère.

SCHULL relève également un certain nombre de données radiobiologiques susceptibles d'inciter à la prudence. Ainsi, dans une étude récente sur des fœtus de rongeurs, l'apparition de cellules pycnotiques dans les neurones de la zone ventriculaire du télencéphale s'est avérée suivre une courbe dose-effet linéaire pour la gamme des doses inférieures à 24 cGy. Des études de résonance magnétique nucléaire chez des individus retardés suite à une exposition prénatale révèlent, tantôt l'existence de matière grise ectopique

bilatérale, traduisant sans doute un déficit dans la migration des neurones (irradiation à la 8ème semaine), tantôt des perturbations de l'architecture cérébrale (irradiation vers 12-13 semaines).

Les événements biologiques impliqués ne se résument sans doute pas à la mort cellulaire, comme dans les mécanismes déterministes classiques, mais incluent des défauts de migration ou des erreurs de synaptogenèse.

Le même auteur évoque les travaux de RAKIC et d'autres qui laissent entendre que le cortex pourrait être une collection de colonnes de développement originaires chacune d'une unité de prolifération spécifique. Il en conclut, et ceci est essentiel, que, si de telles hypothèses de développement cérébral sont correctes, la perte de quelques cellules, voire d'une seule cellule, pourrait aboutir à compromettre ou annuler des fonctions cérébrales spécifiques.

Tout ceci soulève selon moi une question de nature épistémologique : les conclusions tirées par certains au départ des données japonaises ne reposent-elles pas sur un énoncé de base fautif, à savoir que les mécanismes radioinduits sont soit stochastiques, soit déterministes et que, dans ce dernier cas les effets radioinduits sont directement proportionnels au nombre de cellules inactivées. La réalité n'est-elle pas parfois plus complexe avec peut-être ici un mélange d'effets de type déterministe, basés sur la «quantité» de cellules touchées et d'effets d'apparence aléatoire, basés sur la «qualité» de la cellule atteinte ou du mécanisme perturbé. Pour imaginer, ce serait un peu comme l'effet du grain de sable dans un mécanisme fin d'horlogerie

5. INDUCTION DE CANCER.

L'association entre l'irradiation in utero et la probabilité de développer une leucémie ou un cancer, observée depuis longtemps dans le domaine des expositions diagnostiques médicales, était en 1986 considérée comme fermement établie, mais à la même époque l'incohérence avec les données japonaises (et animales) laissait planer des doutes sur la relation causale entre les deux (UNSCEAR 1986).

De fait, les controverses à ce propos ont longtemps agité les milieux scientifiques.

Tant le Comité BEIR (BEIR V) que la CIPR en 1990 (CIPR 60) disposaient de données nouvelles en provenance du Japon relatives aux individus ayant subi une exposition prénatale à Hiroshima et Nagasaki. Ces données paraissent confirmer la radioinduction de cancers tant à court terme (cancers de l'enfance) qu'à long terme. Le risque à court terme est compatible avec l'estimation de BITHELL et STILLER résultant de l'Oxford Survey ($\pm 2 \text{ à } 3 \cdot 10^{-2} \cdot \text{Gy}^{-1}$) et le risque à long terme paraît plus important pour les irradiations prénatales que pour celles qui ont lieu après la naissance. La CIPR 60 estime que la susceptibilité spéciale des fœtus à la radioinduction de cancers apparaissant dans l'enfance doit être «considérée comme réelle même pour des doses très faibles». La CIPR cite, sans prendre position, deux estimations pour le facteur de risque de cancer mortel de l'enfance radioinduit suite aux expositions prénatales : celle de la NAS, à savoir 2,8% par Sv et celle, nettement plus élevée, de GILMAN, 13% par Sv.

6. LES NORMES ET LEUR EVOLUTION.

La réglementation belge actuelle stipule qu'aucune femme enceinte, à partir de la déclaration de grossesse, ne peut être affectée à un poste de travail qui ferait d'elle une personne professionnellement exposée, c'est-à-dire en pratique à un poste où elle risque d'encourir une dose supérieure aux limites de dose pour les personnes du public. De facto, l'enfant qu'elle porte est protégé au même niveau que les membres du public. Par ailleurs, une obligation d'étalement assez stricte des doses dans le temps a pour objectif de protéger les embryons méconnus portés par les travailleuses en état de procréer.

Ces dispositions sont plus sévères que les exigences de la directive Euratom du 15/07/1980 sur les normes de base en radioprotection, pour qui l'enfant porté peut recevoir jusqu'à 10 mSv entre la déclaration de grossesse et le terme de celle-ci et pour qui l'étalement des doses exigé pour les femmes en état de procréer est moins important.

Notons qu'un arrêt récent de la Cour de Justice européenne dans un litige opposant la Commission des Communautés européennes au Royaume de Belgique a admis le principe de limites de dose nationales plus sévères que celles exigées par les directives européennes, ceci devant être considéré, selon la Cour, comme une conséquence logique des finalités de la directive elle-même et du principe d'optimisation de la protection. Pour la Cour de

Justice, les limites de dose figurant dans la directive doivent être entendues comme un « niveau minimum de protection ».

Dans les nouvelles recommandations de la CIPR (CIPR 60), les chapitres consacrés aux données biologiques relatives à l'irradiation in utero pèchent parfois, à mon sens, - nous l'avons vu - par un manque de prudence et par une tendance à tirer des conclusions trop catégoriques. Je cite : « il semble à présent clair que des effets déterministes chez l'enfant né vivant, y compris le retard mental sévère, ne se produiront pas si l'exposition de la mère n'excède pas les limites de dose actuellement recommandées pour l'exposition professionnelle, quelle que soit la distributions de l'exposition dans le temps ».

Néanmoins, et les débats qu'a suscités la diffusion du projet de recommandations n'y sont peut-être pas étrangers - les recommandations elles-mêmes, même si elles sont parfois un peu incohérentes, ont choisi la voie d'une relative prudence.

Je cite à nouveau « les méthodes de protection au travail des femmes en état de procréer devraient procurer un niveau de protection pour tout enfant conçu qui serait largement comparable à celui offert aux membres du public ». Curieusement, la Commission poursuit en estimant que tel sera le cas si on applique le système de protection qu'elle propose, y compris les limites de dose pour l'exposition professionnelle. Elle ne recommande donc pas de limite de dose spéciale pour les femmes en état de procréer.

Pour ce qui est des femmes enceintes (dès la déclaration de grossesse), la Commission recommande d'appliquer une limite de dose supplémentaire de 2 mSv jusqu'à la naissance, à la surface de l'abdomen de la femme, et de limiter les incorporations de radionucléides à environ 1/20 de l'ALI. Elle souhaite insister sur le fait que ces limites devraient « généralement » pouvoir être respectées sans trop de difficultés - et notamment sans menacer l'emploi de la femme - si des contraintes de dose liées à la source sont correctement mises en place et s'il n'y a pas de risque d'exposition accidentelle. A charge pour les autorités nationales de s'en assurer. Notons que la CIPR ne recommande pas explicitement que les limites de dose pour les enfants à naître soient identiques à celles pour les membres du public.

En ce qui concerne les expositions médicales, si la CIPR maintient le conseil d'éviter - sauf indications cliniques majeures - les examens diagnostiques

ou les thérapies susceptibles de causer des expositions abdominales chez les femmes enceintes ou susceptibles de l'être, elle écarte les classiques conseils de prudence relatifs à la seconde phase du cycle menstruel, affirmant l'absence de risque d'effets déterministes ou stochastiques pour l'enfant « né vivant ». Ce qui sous-entend que la mortalité embryonnaire précoce radioinduite peut être négligée...

Dans le projet de révision de la directive « normes de base » préparé par le groupe d'experts de l'article 31 du Traité Euratom et adopté par la Commission des Communautés européennes, les dispositions suivantes ont été prévues : « Dès qu'une grossesse a été déclarée à la hiérarchie, le fœtus est protégé dans toute la mesure du possible comme s'il s'agissait d'une personne du public. L'exposition de la femme enceinte dans le cadre de son emploi est la plus faible qu'il est raisonnablement possible d'obtenir et les conditions de son travail sont telles que la dose équivalente au fœtus ne dépassera vraisemblablement pas 1 mSv pendant le reste de la grossesse ».

On peut constater une volonté beaucoup plus marquée que chez la CIPR d'affirmer explicitement le parallélisme entre la protection de l'enfant à naître et celle des membres du public, avec toutefois une souplesse, traduite par des mots comme « vraisemblablement » ou « dans toute la mesure du possible », souplesse justifiée par les difficultés actuelles de la dosimétrie embryonnaire et fœtale. Les dispositions de l'actuelle directive relatives aux femmes en état de procréer ne sont pas reprises dans le projet, mais une disposition stipule que celles-ci doivent être informées sur la nature de leurs « risques sanitaires particuliers », ce qui sous-entend notamment qu'on doit attirer leur attention sur la nécessité d'une déclaration de grossesse aussi précoce que possible.

7. ENJEUX ET CONFLITS DE VALEURS.

Remarquons d'abord que ce qui va suivre est vu dans l'optique du législateur - ou de celui qui doit le conseiller -, représentant du public dans un contexte démocratique et appelé à établir des normes de protection générale dans le cadre de la gestion de « pratiques » ou de la préparation d'interventions.

Une autre réflexion doit être menée lorsqu'on s'intéresse aux cas individuels où une intervention est nécessaire : par exemple après irradiation accidentelle d'une travailleuse enceinte.

Nous avons déjà souligné, tout au long de l'exposé, un certain nombre de questions d'ordre épistémologique - poids des théories dominantes, difficulté de rencontrer le paradigme d'autres disciplines - et de questions éthiques - exigence scientifique quant aux sources, exigence quant à la cohérence du raisonnement, légitimité des affirmations, attitude face au degré de prudence à adopter vu l'incertitude des données.

L'attitude que l'on prend vis-à-vis de ces questions et les réponses qu'on leur donne influencent bien évidemment la position que l'on a devant le problème du risque et des normes de protection pour l'enfant à naître.

Pour ma part, j'estime que, d'après les données dont je dispose, je me dois de conseiller la prudence quant à l'existence éventuelle d'un seuil d'innocuité ou à sa valeur chiffrée exacte. Sans parler de la cancérogenèse, pour laquelle les coefficients de risque semblent plus élevés pour les irradiations prénatales que pour les irradiations postnatales, on a pu voir que des effets induits aux stades de la préimplantation et du développement du système nerveux central pourraient avoir un caractère stochastique ou partiellement stochastique.

Un autre enjeu essentiel qui ressort cependant aussi de toute la discussion qui précède est celui de savoir si, pour le législateur, l'enfant à naître doit ou non être protégé comme un véritable membre du public. Et si la réponse est « oui », de prendre vraiment les mesures aptes à assurer la réalisation de cet objectif, même si celles-ci entraînent une certaine gêne ou un certain coût.

Remarquons que, dans cette optique, la question de savoir si la dose de 1 mSv est dangereuse ou non, par exemple au regard des doses délivrées par l'irradiation naturelle, n'est pas pertinente. Ou bien il faut remettre également en question les normes pour les membres du public!

Si vous posez à un expert ou à un savant la question de savoir si l'enfant à naître doit être protégé comme une personne du public, vous aurez sans doute des réponses en sens divers. Dans leur (notre ?) champ sémantique, l'être humain avant la naissance est souvent d'abord un blastomère, un

embryon ou un fœtus. Le bocal de formol n'est pas loin dans l'imaginaire. Et puis, il y a les 50 % d'avortements spontanés, la sélection naturelle,... D'autres évoqueront cependant l'absence de hiatus biologique de la conception au terme, les si précoces interactions mère-enfant, tout le jeu des relations anténatales avec l'environnement.

Si vous posez cette question à un juriste, vous entendrez sans doute parler du droit de la femme, des discriminations sexuelles, du risque pour l'emploi,...; d'autres évoqueront cependant les droits de l'enfant, les règles de succession, etc ...

Posez cependant la question à la femme ou au couple qui attend un enfant désiré. Vous découvrirez souvent là, indépendamment des convictions religieuses des intéressés, un vécu culturel, une perception bien différente de l'enfant à naître.

Dès la conception, ou dès le résultat positif de ces nouveaux tests de grossesse aux résultats si précoces, ce n'est pas d'un blastomère ou d'une morula que se préoccupent les parents, mais d'emblée d'un nouveau membre de leur famille. Pas d'un membre potentiel, mais de quelqu'un de bien présent, de bien réel. On remarque certainement ici l'influence des nombreux films et livres consacrés au sujet, et surtout des extraordinaires images produites par les examens ultrasonographiques. Une telle image n'est-elle pas reproduite actuellement sur de grandes affiches ornant les murs de la ville avec les mots évocateurs : « quand l'homme protège l'eau, l'eau protège l'homme ». L'homme, pas le fœtus.

Faut-il le protéger comme un membre du public ? Il y a des bonnes chances que ces parents vous répondent : pas « comme » un membre du public, mais « mieux » !

Et que doit faire le législateur ? En appeler à la science ? Mais la science ne peut pas répondre à cette question. Rester neutre ? Mais quoi qu'on décide, par le fait même de décider, on prend position. On ne peut échapper au choix de valeurs prioritaires. Personnellement, j'ai choisi. Et je suis heureux de constater que l'article 31 et la Commission des Communautés Européennes ont fait un choix qui ne devrait pas trop déplaire aux jeunes parents dont je parlais plus haut.

Samenvatting

Naast een overzicht van de actuele wetenschappelijke discussies met betrekking tot de risikobepaling verbonden met de bestraling in utero en een beschrijving van de evolutie van de internationale aanbevelingen en ontwerpen van reglementering ter bescherming van het ongeborn kind, wordt in deze uiteenzetting de nadruk gelegd op de alomtegenwoordige wisselwerking met vragen en bekommernissen die soms van epistemologische, veelal van kulturele en bijna altijd van etische aard zijn.

Abstract

While reviewing the present scientific discussions on the evaluation of the risks of irradiation in utero and while describing the evolution of the international recommendations and projects of regulation on the subject of protection of the unborn child, the paper tries to emphasize the everpresent interactions of questions or issues of sometimes epistemological, often cultural and nearly always ethical nature.

Références bibliographiques

1. 1990 Recommendations of the International Commission on Radiological Protection, ICRP Publication 60, (Annals of the ICRP, vol. 21, n° 1-3), 1991.
2. Genetic and somatic effects of ionizing radiation, United Nations Scientific Committee on the Effects of Atomic Radiation (UNSCEAR), 1986.
3. The biological basis for the control of prenatal irradiation, Nuclear Energy Agency, Paris, 1988.
4. Health effects of exposure to low levels of ionizing radiation, Committee on the Biological Effects of Ionizing Radiations (BEIR V), National Academy Press, Washington, D.C., 1990.
5. SCHULL W. J., Ionizing Radiation and the Developing Human Brain. In : Risks associated with ionizing radiations, Annals of the ICRP, Vol.22, n°1, 1991.
6. Health Effects Models Developed from the 1988 UNSCEAR Report, NRPB - R 226, 1988.
7. Low Dose Radiation, biological bases of risk assessment, K.F. BAVERSTOCK and J.W. STATHER, Taylor and Francis, 1989.

CONSEQUENCES POSSIBLES POUR L'EMBRYON D'UNE IRRADIATION EN PERIODE PREIMPLANTATOIRE

P. Jacquet *

Laboratoire de Radiobiologie, Département de Radioprotection
C.E.N. • S.C.K.
B-2400 Mol - Belgique

**Paul Jacquet, membre de BVSABR de 1977 à 1998, est décédé le 11 février 2018.*

texte de l'exposé du 19 mars 1993

Résumé

Depuis les années '70, les techniques de culture in vitro ont été largement utilisées pour étudier les effets et mécanismes d'action des radiations administrées à l'embryon durant la période préimplantatoire. Ces expériences ont montré que la radiosensibilité est généralement plus élevée durant les premiers stades et diminue au fur et à mesure que le nombre de cellules embryonnaires s'accroît. Toutefois, les variations de radiosensibilité observées entre les différentes phases du cycle cellulaire sont encore plus importantes que celles notées entre les différents stades du développement. La radiosensibilité semble maximale au stade unicellulaire, vers le moment de la formation des pronuclei (8 premières heures du développement). La mort embryonnaire radio-induite résulte essentiellement d'aberrations chromosomiques structurelles et numériques, susceptibles de se développer même plusieurs cycles cellulaires après l'irradiation. D'autres études ont mis en évidence des altérations biochimiques fines chez les embryons irradiés, telles que des inhibitions dans la synthèse ou la phosphorylation de protéines spécifiques. Des résultats obtenus aux Etats Unis et dans notre laboratoire ont mis en évidence une «tendance» à un accroissement du nombre de foetus malformés chez certaines races de souris suite

à une irradiation dans les heures qui suivent la fécondation. Bien que moins prononcés, ces effets vont dans le même sens que ceux obtenus en Allemagne, chez une autre race de souris.

1. Introduction

Les effets classiques résultant d'une irradiation de l'embryon de mammifère sont 1) un retard de la croissance intra- ou extra-utérine, 2) la mort embryonnaire, foetale ou néonatale et, 3) des malformations congénitales. Chez les animaux multipares, ces trois effets peuvent être présents simultanément dans la même portée, après irradiation. Dans le cas d'une grossesse ne concernant qu'un seul embryon, comme chez l'homme, l'embryon avorté peut être également malformé aussi bien qu'affecté d'un retard de croissance. La probabilité de trouver un ou plusieurs de ces effets chez un embryon exposé aux radiations dépend en fait d'un certain nombre de facteurs incluant la dose absorbée, le débit de dose et le stade de la gestation auquel l'exposition a eu lieu.

Chez les mammifères, le développement embryonnaire peut être grossièrement divisé en trois périodes, correspondant chacune à une sensibilité particulière aux différents effets radio-induits. Ces périodes sont la période préimplantatoire, qui s'étend de la fécondation de l'embryon jusqu'à son implantation dans l'utérus maternel, la période de l'organogenèse durant laquelle les différents organes sont formés, et la période foetale, correspondant à la croissance des organes nouvellement formés chez un animal qui présente déjà toutes les caractéristiques morphologiques de l'espèce.

La longueur relative des deux dernières périodes varie considérablement selon les espèces. Ainsi, par exemple, chez l'homme c'est la période foetale qui est de loin la plus longue, puisqu'elle représente environ 80% du temps total de la grossesse. La période de l'organogenèse, qui s'étend de la 2^e à la 8^e semaine, ne représente donc qu'une quinzaine de pourcents. Chez les rongeurs, qui sont les animaux de laboratoire les plus utilisés, c'est la période de l'organogenèse qui est la plus longue. Elle représente environ 40% du temps de la gestation chez la souris, alors que la période foetale en représente 25 à 30%.

Les expériences réalisées sur animaux ont montré que les effets induits par les agents physiques aussi bien que chimiques varient considérablement entre les trois périodes de la gestation. Ainsi, la mort prénatale est caractéristique d'un traitement durant la phase préimplantatoire. La mortalité néonatale et les malformations sont particulièrement liées à l'organogenèse. Un agent administré durant la période foetale n'induit en principe pas de malformations importantes, mais plutôt des retards de croissance, particulièrement du système nerveux central et des gonades et, si les doses sont très élevées, la mort postnatale. En fait, si ce schéma reste valable dans la plupart des cas, il souffre néanmoins quelques exceptions ayant trait à la période préimplantatoire. Ces exceptions concernent certains agents chimiques et peut-être les radiations, qui seraient susceptibles dans certains cas de produire des malformations congénitales après administration au cours des tout premiers stades du développement.

Au cours d'un article précédent, nous avons abordé le problème des malformations, suite à une irradiation de l'embryon préimplanté. Nous referons donc brièvement le point sur cette question, deux ans plus tard, à la lumière des quelques données nouvelles obtenues dans notre laboratoire et ailleurs. Avant cela, nous donnerons un aperçu des méthodes utilisées pour étudier la sensibilité de l'embryon préimplanté aux autres effets des radiations, et des résultats obtenus à l'heure actuelle.

2. Utilité des techniques modernes de culture in vitro, pour l'étude de la radiosensibilité de l'embryon préimplanté.

Chez l'homme, il est virtuellement impossible d'étudier les événements survenant chez l'embryon avant son implantation, étant donné que l'on ne peut savoir si la fécondation a eu lieu avant que les tests radioimmunologiques les plus sensibles aient détecté une augmentation de la concentration d'hCG dans les urines, indicatrice d'une activité trophoblastique. Il est toutefois largement admis que beaucoup de grossesses se terminent avant même d'avoir été diagnostiquées cliniquement, et souvent même avant la première menstruation. Ceci explique pourquoi les observations directes des stades préimplantatoires humains soient si rares, tant pour le développement normal que pour l'exposition à des agents embryotoxiques comme les radiations. On est donc obligé de se fier aux résultats obtenus chez les animaux d'expérience. D'où surgit inévitablement le problème

de l'extrapolation à l'homme des résultats obtenus. De ce point de vue toutefois, l'embryon mammalien préimplanté présente quelques avantages, car il existe une grande similarité entre de nombreuses espèces de mammifères pour ce qui concerne les premiers stades du développement. Cette similarité porte sur le timing des changements morphologiques, aussi bien que sur de nombreux paramètres métaboliques, comme par exemple l'utilisation par les embryons du pyruvate comme source d'énergie principale, ou le métabolisme de l'ADN et de l'ARN, semblable chez beaucoup d'espèces. Ces nombreuses similarités suggèrent que les résultats d'études sur embryons de rongeurs, comme la souris, pourraient être extrapolés à l'homme sans trop de problèmes.

Durant les années '70, les techniques in vitro furent introduites en radiobiologie, pour étudier les effets et mécanismes d'action des radiations sur l'embryon préimplanté. Ces techniques présentaient divers avantages, tels que l'incubation dans des conditions bien définies ainsi qu'un timing rigoureux des traitements, la possibilité d'observer le développement de l'embryon à tout moment, et de réaliser sur lui des études morphologiques, cytogénétiques ou biochimiques précises.

Dans les études consacrées aux effets des radiations sur l'embryon préimplanté, on peut arrêter les cultures après 4 ou 5 jours, au moment où les embryons ont normalement dû atteindre de stade de blastocyste prêt à s'implanter.

Dans ces études, le clivage des embryons et leur développement jusqu'au stade de blastocyste constituent les paramètres critiques les plus évidents. Des effets sévères se traduisent par la mort rapide des cellules, d'autres effets moins prononcés s'exprimeront par une activité de clivage moindre, ou par un arrêt du développement à partir d'un certain stade. Outre leurs effets létaux, les radiations peuvent donc induire un simple retard de développement, qui n'est pas toujours évident à première vue. En effet, si le nombre de cellules d'un embryon peut facilement être déterminé jusqu'au stade 8-cellules, il n'en est plus de même après, à partir du stade morula et plus encore du stade blastocyste, qui peut facilement compter une bonne centaine de cellules au moment de l'implantation. Pour compter le nombre de cellules dans des embryons préimplantés, on soumet ceux-

ci à un choc hypotonique, puis on les dépose sur une lame dégraissée, et on laisse tomber sur eux une ou plusieurs gouttes de fixateur, selon le stade, sous le contrôle de la coupe binoculaire. Les cellules disloquées de l'embryon s'étalent donc sur la lame. Après coloration des noyaux, on peut déterminer le nombre de cellules, de même que l'index mitotique.

Une autre technique, très récente et que nous commençons à utiliser au laboratoire, est celle des chimères embryonnaires. Brièvement, deux embryons au même stade, et dont l'un des deux a été irradié, sont accolés après dissolution de la zone pellucide qui les entoure, et marquage de l'embryon témoin ou irradié par le FITC, un marqueur cytoplasmique non toxique. On laisse l'embryon chimérique se développer durant deux cycles cellulaires, puis on détermine la contribution relative de chacune des deux parties au nombre total de cellules atteint. Si l'irradiation n'a pas d'effet, l'embryon chimérique aura 50% de ses cellules originaires de la partie irradiée et 50% originaires de la partie témoin. La technique des embryons chimériques permet la mise en évidence d'effets subtils induits par des doses extrêmement faibles de radiations, et se manifestant par une activité de clivage moindre chez les embryons irradiés. Aux doses utilisées, de tels effets passeraient inaperçus sans le recours à cet artifice, et l'on peut se demander quelles seraient leurs conséquences éventuelles à long terme pour l'embryon lésé.

Les études morphologiques sur embryons peuvent être complétées par des études cytogénétiques, permettant la mise en évidence d'aberrations chromosomiques radio-induites dans les cellules embryonnaires en division. Pour de telles études, on incube les cellules embryonnaires dans un milieu contenant de la colchicine, afin d'arrêter leurs divisions au stade de la métaphase permettant leur examen au microscope. Une autre possibilité consiste à les laisser se diviser et à compter dans leurs cellules-filles le nombre de noyaux secondaires, ou micronoyaux, formés par des fragments chromosomiques ou des chromosomes entiers non inclus dans le noyau principal, suite à des lésions radio-induites de l'appareil mitotique. Enfin, on peut réaliser sur l'embryon préimplanté un certain nombre d'études biochimiques, pour étudier par exemple de façon précise les effets d'une irradiation sur la synthèse d'ADN ou sur la synthèse et/ou phosphorylation de protéines spécifiques. Il nous est toutefois impossible

de rentrer dans le détail de ces techniques, dans le cadre de cet article général.

3. Résultats principaux des études réalisées avec les techniques de culture *in vitro*

Les études réalisées avec l'aide des techniques de culture *in vitro* ont généralement montré que la mort embryonnaire résultant d'une irradiation des différents stades préimplantatoires survenait vers le moment de l'implantation, c'est à dire au moment de la formation du blastocyste.

Toutefois, les valeurs de LD50 (doses nécessaires pour empêcher 50% des embryons d'atteindre le stade de blastocyste) obtenues après irradiation des divers stades montrent de grandes variations selon les auteurs. Ainsi, par exemple, les valeurs obtenues pour une irradiation du stade 2-cellules varient d'environ 2 à 4 Gy, tandis que pour le stade 4-cellules, elles vont de 2,3 à 5,7 Gy. Pour le stade morula, les valeurs de LD50 montrent encore de plus grandes variations, allant de 3 à plus de 10 Gy. En fait, la plupart de ces contradictions peuvent probablement s'expliquer par le fait que les embryons ont été irradiés à différents moments du cycle cellulaire. En effet, des études plus détaillées, réalisées notamment dans notre laboratoire, ont montré que les variations de radiosensibilité observées au cours d'un même cycle cellulaire étaient bien plus importantes que celles qui pouvaient exister entre différents stades de développement. De telles expériences ont été réalisées essentiellement sur des embryons aux stades 1- et 2-cellules, rigoureusement synchronisés. Ainsi, par exemple, la radiosensibilité de l'embryon peut varier d'un facteur 10 au cours du même stade 1-cellule, et c'est dans les 4 à 8 heures suivant la fécondation qu'elle semble le plus importante de tout le développement embryonnaire préimplantatoire, avec une LD50 située entre 40 et 70 cGy selon les races de souris (1,2).

Les mécanismes de la mort embryonnaire radioinduite ont été étudiés dans quelques laboratoires. Rugh et Grupp (3), parmi les premiers, ont rapporté que des doses très faibles de radiations étaient capables de provoquer de dommages morphologiques dans l'embryon. Des embryons qui n'avaient reçu que 5 cGy peu après la fécondation montraient déjà 6 heures plus tard des anomalies cytoplasmiques et nucléaires, une pycnose ou une

dissolution complète des blastomères. Des observations semblables ont été rapportées plus tard par Kirckpatrick (4).

D'autre part, les observations également anciennes de Russell et Montgomery (5) suggéraient que des anomalies chromosomiques, entre autre des aneuploïdies, pourraient jouer un rôle important dans la mortalité radioinduite. Depuis lors, des études cytogénétiques détaillées ont été réalisées. En comparant les effets des radiations chez l'embryon à 1 et 2 cellules, Weissenborn et Streffer (6) trouvèrent que la mort embryonnaire était clairement liée à la présence de micronoyaux après l'irradiation, et que ces deux phénomènes étaient plus clairs après irradiation du stade 1-cellule que du stade 2-cellules. Ils notèrent que les embryons qui se divisaient plus tôt après l'irradiation montraient plus de micronoyaux que ceux qui se développaient plus lentement, ce qu'ils attribuèrent au fait que les embryons qui se divisaient plus tard disposaient de plus de temps pour réparer les dommages chromosomiques.

Une autre constatation intéressante était que de nouvelles aberrations chromosomiques apparaissaient au cours de la seconde mitose suivant l'irradiation. Les auteurs assumèrent qu'il existait des lésions à l'ADN qui exigeaient le passage par deux cycles cellulaires au moins avant de se transformer en aberrations chromosomiques visibles. De même, d'autres micronoyaux se formaient même après les 3e et 4e mitoses suivant l'irradiation. Ces micronoyaux étaient constitués de fragments chromosomiques acentriques mais aussi de chromosomes entiers, comme le montrait l'accroissement concomitant de métaphases hypoploïdes (6).

En conclusion, selon l'équipe d'Essen, la mort embryonnaire résulterait essentiellement d'aberrations chromosomiques structurelles et numériques, qui se développeraient même plusieurs cycles cellulaires après l'irradiation. Dans les études de Matsuda et collaborateurs au Japon, ainsi que dans notre laboratoire, les aberrations chromosomiques ont été étudiées au cours de la première mitose suivant l'irradiation d'embryons unicellulaires (7,8). Ces études ont confirmé la corrélation étroite entre la mort embryonnaire et l'induction d'anomalies chromosomiques par les radiations.

Ainsi que nous l'avons évoqué plus tôt, les radiations peuvent également provoquer, à faibles doses, de simples retards de développement dont les

conséquences possibles à long terme ne sont pas encore connues. Un cas très particulier de retard de développement a été constaté dans notre laboratoire, chez les embryons de souris unicellulaires de race BALB/c. Suite à une irradiation, ceux-ci peuvent évoluer normalement jusque vers la fin de leur premier cycle cellulaire, mais demeurent ensuite bloqués juste avant la mitose, incapables de se diviser. Ce blocage temporaire de la division, connu sous le nom de «G2-delay» est un phénomène commun à toutes les cellules irradiées, mais il est très fortement amplifié chez les embryons unicellulaires BALB/c (9). Depuis plus de 30 ans, de très nombreuses études ont été consacrées au G2-delay, dont on commence seulement à saisir certains mécanismes partiels. Pour diverses raisons, l'embryon BALB/c constitue un des meilleurs systèmes possibles pour de telles études, et les résultats obtenus jusqu'à présent dans notre laboratoire sont fort encourageants. La mise en oeuvre de techniques biochimiques très fines, telles que celles évoquées plus haut, jointe à l'utilisation d'agents bien caractérisés, tels que la caféine, capables de renverser le G2-delay, nous permet paradoxalement de dépasser le cadre strict de la Radiobiologie pour aborder le problème extrêmement important du mécanisme de la division cellulaire et de son contrôle. Les implications potentielles de telles recherches sont évidentes, notamment dans le domaine de la cancérologie.

4. Les risques de malformations congénitales liés à l'irradiation des stades préimplantatoires : résultats récents.

Comme nous l'avons signalé il y a deux ans, des études réalisées en Allemagne ont montré que l'irradiation de souris gestantes de race Heiligenberger au cours des premiers stades suivant la fécondation était susceptible d'entraîner l'apparition de malformations chez l'embryon (10,11). De tels résultats remettaient en question le dogme selon lequel pour pouvoir induire des malformations chez l'embryon, il faut exposer celui-ci durant la période de l'organogenèse. En fait, ces études ne sont pas les seules à avoir bousculé ce dogme, puisque d'autres recherches effectuées aux Etats-Unis avec divers agents chimiques ont abouti aux mêmes conclusions. Il ressortait de ces divers travaux que l'embryon préimplanté était le plus sensible à ce type d'effet au cours du stade unicellulaire, dans les 7 premières heures suivant la fécondation. L'an passé, la même équipe américaine a publié les résultats d'expériences réalisées avec des rayons X, administrés 2 heures 30 après la fécondation d'embryons hybrides (C3H

x C57Bl). Les taux d'embryons malformés obtenus en fin de gestation étaient de 1,2% chez les individus témoins, 3,6% chez ceux qui avaient été exposés à 1,5 Gy et 6,2% chez ceux qui avaient été irradiés par 2 Gy (12). Toutefois, seule la valeur obtenue après 2 Gy était significativement augmentée par rapport aux témoins. D'autre part, le spectre d'anomalies trouvées était assez large, comme pour les agents chimiques, alors qu'en ce qui concerne les études réalisées en Allemagne, il y avait une forte prédominance de gastroschisis (anomalie de la paroi abdominale) parmi les embryons anormaux.

A notre tour, nous avons réalisé des études similaires chez deux autres races de souris, soit la BALB/c et la CFl. Comme pour les deux autres études récentes, les femelles ont été mises en présence des mâles durant un laps de temps assez court après la superovulation, de façon à disposer de populations embryonnaires bien synchronisées. Elles ont été irradiées 7 heures après la fécondation présumée mais, contrairement aux autres études, les doses de rayons X administrées étaient assez faibles : 5, 10, 20 ou 50 cGy. De plus, nous avons utilisé deux sortes de groupes témoins, soit des animaux n'ayant subi aucune manipulation et d'autres « sham-irradiés » c'est-à-dire ayant subi exactement les mêmes manipulations que les animaux irradiés, excepté l'irradiation proprement dite. Un jour avant la mise-bas, les femelles ont été sacrifiées et leurs embryons pesés et examinés sous la loupe binoculaire. D'autre part, les squelettes d'une partie d'entre eux ont été également examinés en détail, après enlèvement de la peau et des viscères, et coloration par le rouge d'alizarine S.

On peut brièvement résumer les résultats obtenus et non encore publiés de la façon suivante. Chez les souris de race BALB/c, les malformations sont apparues dans pratiquement tous les groupes, y compris les témoins, et aucune augmentation du nombre d'embryons anormaux ou sous-développés n'a été notée suite à l'irradiation. De plus, le nombre de malformations squelettiques constatées n'a pas été accru non plus. De toute évidence, aux doses utilisées, l'irradiation n'augmente pas le risque tératogène chez cette race.

Chez la race CFl, très peu de malformations ont été observées également, mais la proportion d'embryons anormaux était apparemment plus élevée dans les groupes irradiés que chez les témoins. Les malformations

externes étaient de différents types, soit exencéphalie, gastroschisis, hypotet polydactylie, malformation sévère de la face. Si les embryons sous-développés étaient ajoutés à ceux porteurs de malformations externes, la proportion d'embryons anormaux augmentait en fonction de la dose de radiation, la différence vis-à-vis des témoins étant significative pour la dose la plus élevée, soit 50 cGy. Quant aux malformations squelettiques, aucun effet des radiations n'a pu être noté.

Ces résultats obtenus chez la race CFl vont donc dans la même direction que ceux obtenus chez deux autres races, en Allemagne et aux Etats-Unis, en ce sens qu'une «tendance» à un accroissement du nombre d'anomalies foetales a été constatée après irradiation de l'embryon peu après la fécondation, avec des doses relativement faibles de radiations. De tels résultats demanderaient toutefois confirmation après utilisation d'une dose plus élevée de radiations (1 Gy).

5. Conclusion

La dose reçue par l'embryon lors d'irradiations diagnostiques in utero est normalement inférieure à 5 cGy. De plus, dans la plupart des cas, les expositions lors d'examens diagnostiques intensifs sont fractionnées et/ou le débit de dose est faible. Théoriquement, ce type d'exposition est moins efficace pour provoquer des malformations qu'une exposition aiguë. On peut penser que, dans les conditions de la vie courante, le risque dû aux expositions est faible, comparé aux risques spontanés qui accompagnent la grossesse : selon les estimations les plus récentes, en effet, environ 15% des conceptions reconnues se termineraient par un avortement spontané. En outre, bien que la fréquence naturelle de toutes les anomalies congénitales chez l'homme soient fort difficiles à évaluer pour de multiples raisons, il semble bien qu'elle puisse atteindre 6% de toutes les naissances d'enfants.

Toutefois, 30% de ces anomalies ont à l'heure actuelle une origine inexpliquée, et il nous semble impérieux de poursuivre les recherches récemment entreprises dans des conditions parfaitement contrôlées, afin de mieux préciser une participation éventuelle, si faible soit-elle, des radiations dans ce risque tératogène.

D'autre part, il reste toujours la possibilité que des modifications biochimiques ou fonctionnelles puissent être induites par les radiations, comme l'ont montré par exemple les recherches sur le « G2-delay ». De telles recherches doivent elles aussi être poursuivies et même intensifiées, en utilisant les nombreuses techniques fines récemment développées pour ce type d'études chez l'embryon.

Remerciements

Les recherches concernant les effets tératogènes possibles des radiations durant la période préimplantatoire font partie du Programme d'Impulsion « Risques pour la Santé », mis en oeuvre à l'initiative de l'Etat Belge. Services du Premier Ministre - Programmation de la Politique Scientifique (contrat HH/52/016).

Références

1. Yamada, T., O. Yukawa, Y. Mat.Buda and A. Okkawa (1982), *J. Radiat. Res.*, 23, 450-456.
2. Jacquet, P., and S.Grinfeld (1990), *Teratology*, 42, 453-462
3. Rugh, R., and G. Grupp (1959), *J. Exp. Zool.*, 143, 571-587.
4. Kirkpatrick, J.F. (1973), *Anat. Rec.*, 176, 397-404.
5. Russell, L.B., and C.S. Montgomery (1966), *Int. J. Radiat. Biol.*, 10, 151-164.
6. Weissenborn, U., and C. Streffer (1988), *Int. J. Radiat. Biol.*, 54, 381-394.
7. Mat.Buda, Y., I. Tobari, and T. Yamada (1985), *Mutat. Res.*, 151, 275-280.
8. Grinfeld, S., and P. Jacquet (1988), *Int. J. Radiat. Biol.*, 54, 257-268.
9. Grinfeld, S., and P. Jacquet (1987), *Int. J. Radiat. Biol.*, 51, 353-363.
10. Pampfer, S., and C. Streffer (1988), *Teratology*, 37, 599-607.
11. Müller, W.U., and C. Streffer (1990), *Teratology*, 42, 643-650.
12. Rutledge, J.C., W.M. Gereroso, A. Shourbaji, K.T. Cain, M. Gans, and J. Oliva (1992), *Mutat. Res.*, 296, 167-177.

Samenvatting

Muis embryo culturen in vitro werden in de loop van de zeventiger jaren veelvuldig gebruikt voor het onderzoek naar de effecten en werkingsmechanismen van straling toegediend gedurende pre-implantatiestadia van de ontwikkeling. Dergelijke experimenten hebben over het algemeen aangetoond dat de stralingsgevoeligheid groter is gedurende de vroege stadia en dan afneemt naarmate het aantal cellen in het embryo toeneemt. De verschillen in gevoeligheid tussen de verschillende fasen van de celcyclus zijn niettemin nog belangrijker dan deze tussen de verschillende ontwikkelingsstadia. De radiogevoeligheid schijnt het grootst in het ééncellig stadium, en wel rond het ogenblik van de pronucleus vorming. Stralingsgeïnduceerde embryonale sterfte is vooral het gevolg van structurele of numerieke chromosoomafwijkingen. Deze komen zelfs tot uiting vele celgeneraties na de bestraling. Andere studies toonden biochemische alteraties aan in bestraalde embryos, zoals inhibitie van de synthese of fosforylatie van specifieke proteïnen. Héél recent werd zowel in ons laboratorium als in laboratoria in Duitsland en de Verenigde Staten aangetoond dat, tenminste in sommige muisstammen, bestraling kort na de bevruchting het aantal voldragen misvormde embryos kan verhogen.

Abstract

During the years '70, in vitro cultured mouse embryos have been widely used to study the effects and mechanisms of action of radiation given during the preimplantation stages. Such experiments generally showed that the radiosensitivity is higher during early stages and decreases as the number of cells in the embryo increases. However, the variations of sensitivity between the different phases of the cell cycle are even more important than those between the different stages. Radiosensitivity seems to be highest at the one-cell stage, around the time of pronuclear formation. Radiation-induced embryonic death results essentially from structural and numerical chromosome aberrations. These should develop even during several cell generation cycles after irradiation. Other studies evidenced fine biochemical alterations in irradiated embryos, like inhibition of synthesis or phosphorylation of some specific proteins. Very recent results obtained in Germany, as well as in the United States and in our laboratory, showed that in some mouse strains radiation delivered soon after fertilization could increase the number of malformed embryos at term.