

CEA-R-5740



(NC) 21E



FR9704314

COMMISSION INTERNATIONALE À L'ÉNERGIE ATOMIQUE

Gestion INIS
Doc. enreg. le : 15/4/97
N° TRN : F.R.92-4314
Destination : I,I+D,D

97000544

**MESURE DE LA CIRCULATION SANGUINE
CUTANÉE CHEZ LE PORC IRRADIÉ
À L'AIDE DE RADIOISOTOPES ÉMETTEURS β**

par

**François DABURON, Jean-Louis LEFAIX,
Jean-Jacques LEPLAT, Gérard FAYART,
Daniel DELACROIX, Phung LE THANH**

DIRECTION DES SCIENCES DU VIVANT
DÉPARTEMENT DE RADIOBIOLOGIE ET DE RADIOPATHOLOGIE
LABORATOIRE DE RADIOBIOLOGIE ET D'ÉTUDE DU GÉNOME
ET
DIRECTION CEA/SACLAY
UNITÉS DE GESTION SÉCURITÉ-PROTECTION
SERVICE DE PROTECTION CONTRE LES RAYONNEMENTS

CEA / Saclay

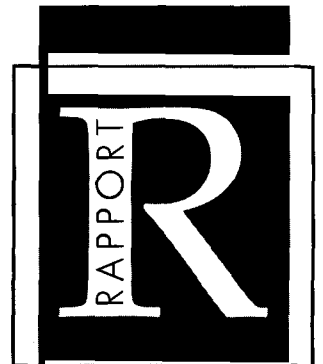
DIRECTION DES SCIENCES DU VIVANT
DIRECTION CEA/SACLAY



97000544

DIRECTION DE L'INFORMATION
SCIENTIFIQUE ET TECHNIQUE

CEA/SACLAY 91191 GIF-SUR-YVETTE CEDEX FRANCE



**RAPPOR
CEA-R-5740**

1997

**RAPPORT CEA-R-5740 - François DABURON, Jean-Louis LEFAIX, Jean-Jacques LEPLAT,
Gérard FAYART, Daniel DELACROIX, Phung LE THANH**

**“MESURE DE LA CIRCULATION SANGUINE CUTANÉE CHEZ LE PORC
IRRADIÉ À L'AIDE DE RADIOISOTOPES ÉMETTEURS β ”**

Sommaire - Les méthodes non invasives d'étude de la circulation sanguine de la peau sont nombreuses, mais ne donnent généralement pas d'indication sur la micro-circulation cutanée, excepté pour le laser Doppler cutané. Les techniques classiques d'exploration isotopiques avec des émetteurs γ , même de faible énergie, ne permettent pas de caractériser la microcirculation, en raison d'une trop forte contribution des tissus sous-cutanés. L'utilisation d'émetteurs β principalement mono-énergétiques, permet une autre approche. Les modifications du spectre en énergie β , analysées par différentes méthodes quantitatives sont proportionnelles à l'épaisseur d'écran intercalée entre la source radioactive et le détecteur. A l'aide de fantômes simples et complexes, composés d'écrans en équivalents tissus et de sources de ^{32}P disposées à différentes profondeurs dans ces fantômes, il a été possible d'étudier la dégradation des spectres β simulants respectivement les niveaux vasculaires sous-épidermique et sous-dermique, avec du ^{32}P -phosphate injecté par voie veineuse à des porcs.

1997 - Commissariat à l'Energie Atomique - France

**RAPPORT CEA-R-5740 - François DABURON, Jean-Louis LEFAIX, Jean-Jacques LEPLAT,
Gérard FAYART, Daniel DELACROIX, Phung LE THANH**

**“BLOOD FLOW MEASUREMENTS IN THE IRRADIATED PIG SKIN USING
 β EMITTERS RADIONUCLIDES ”**

Summary - Non invasive methods of study of the skin blood flow are numerous, but generally do not give any indication on the cutaneous microcirculatory flow, except for cutaneous laser Doppler. The isotopic exploration of the skin with injected γ radionuclides, even of weak energy, does not allow to characterize the skin blood flow, because of the important contribution of the subcutaneous tissues. The use of β emitters energy spectrum, analyzed by different quantitative methods, are proportional to the thickness of the screen localized between the radioactive source and detector. Using simple and complex phantoms composed of tissue equivalent screens, with ^{32}P sources placed at different depths, it was possible to study the degradation of β spectra, simulating respectively the sub-epidermis and sub-dermis vascular levels. A modelization and an experimental study *in-vivo* are proposed in this work, with ^{32}P -phosphate administered intravenously in pigs.

1997 - Commissariat à l'Energie Atomique - France

97050544

- Rapport CEA-R-5740 -

CEA SACLAY

Direction des Sciences du Vivant

Département de Radiobiologie et de Radiopathologie

Laboratoire de Radiobiologie et d'Étude du Génome

et

Direction CEA-SACLAY

Unités de Gestion Sécurité-Protection

Service de Protection contre les Rayonnements

MESURE DE LA CIRCULATION SANGUINE
CUTANÉE CHEZ LE PORC IRRADIÉ
À L'AIDE DE RADIOISOTOPES ÉMETTEURS β

par

François DABURON, Jean-Louis LEFAIX, Jean-Jacques LEPLAT, Gérard FAYART
Daniel DELACROIX, Phung LE THANH

- Janvier 1997 -

MESURE DE LA CIRCULATION SANGUINE CUTANEE CHEZ LE PORC IRRADIE A L'AIDE DE RADIOISOTOPES EMETTEURS β

I - INTRODUCTION - POSITION DU PROBLEME

II - RAPPEL ANATOMIQUE ET PHYSIOLOGIQUE

- II-A LES ARTERES
- II-B LES VEINES
- II-C LES CAPILLAIRES
- II-D LA MICRO-CIRCULATION

III - RADIOPATHOLOGIE

III-A LES VAISSEAUX - ASPECTS ANATOMOPATHOLOGIQUES

- III-A-1 Généralités
- III-A-2 Lésions précoces
- III-A-3 Lésions à moyen terme
- III-A-4 Lésions à long terme

III-B LA CIRCULATION SANGUINE

- III-B-1 Congestion active
- III-B-2 Exsudation
- III-B-3 Thrombose-Ischémie
- III-B-4 Les aspects circulatoires

IV - MATERIEL ET METHODES

IV-A ANIMAUX

IV-B CONDITIONS D'IRRADIATION

- IV-B-1 Les sources d'irradiation
- IV-B-2 Les doses

IV-C EXPLORATION FONCTIONNELLE DE LA CIRCULATION CUTANEE

- IV-C-1 Principales caractéristiques des radioéléments utilisés
- IV-C-2 Protocoles expérimental
- IV-C-3 Analyse du spectre β

IV-D PRINCIPE DE LA MESURE

- IV-D-1 La forme du spectre β
- IV-D-2 La théorie de Fermi
- IV-D-3 Application *in vivo*

V - RESULTATS

V-A TRAITEMENT DU SPECTRE β

- V-A-1 Etalonnage
- V-A-2 Rendement des sondes
- V-A-3 Protocole de mesure

V-B RESULTATS *IN VIVO*

- V-B-1 Evolution du plateau
- V-B-2 Evolution de la pente
- V-B-3 Analyse en composante principale
- V-B-4 Analyse de variance

V-C CAS D'UNE BRÛLURE CUTANEE.

- V-C-1 Méthodologie
- V-C-2 Résultats

V-D CONCLUSION

V-E ESSAIS DE SIMULATION *IN VITRO* DES SPECTRES OBTENUS *IN VIVO*

- V-E-1 Principe de la méthode
- V-E-2 Conditions de validité
- V-E-3 Construction des modèles
- V-E-4 Résultats
 - V-E-4 a) étalonnage
 - V-E-4 b) mesures *in vitro*
 - V-E-4 c) application aux brûlures thermiques
- V-E-5 Régression multilinéaire
 - V-E-5 a) spectres simples
 - V-E-5 b) spectres complexes
 - V-E-5 c) spectre moyen de la peau
 - V-E-5 d) vérifications
 - V-E-5 e) limites de la méthode
- V-E-6 Applications
 - V-E-6 a) brûlures thermiques
 - V-E-6 b) irradiation β
- V-E-7 Cas particuliers
 - V-E-7 a) 186 Rhénium
 - V-E-7 b) 33 Phosphore et 169 Erbium
- V-E-8 Corrélations anatomiques

VI - COMPARAISONS AVEC D'AUTRES METHODES

VI-A LASER DOPPLER CUTANE

- VI-A-1 Principe de la méthode
- VI-A-2 Matériel et méthodes
- VI-A-3 Résultats

VI-B MODIFICATIONS DU DEBIT SANGUIN LOCAL

VI-C CONDUCTIVITE THERMIQUE

VI-C-1 La conductivité thermique

VI-C-2 Relations entre les variables cutanées bio-électriques et thermovasculaires

VI-D THERMOGRAPHIE

VI-D-1 Thermographie infra-rouge

VI-D-2 Thermographie micro-ondes

VI-E CLAIRANCE DU ¹³³Xe

VI-E-1 Les différentes méthodes utilisées chez l'homme

VI-E-2 Expérimentations réalisées chez le porc irradié localement

VII - CONCLUSION - LIMITES DE LA METHODE

VIII - REFERENCES

RESUME

Les méthodes non invasives d'étude de la circulation sanguine de la peau sont nombreuses, mais ne donnent généralement pas d'indication sur la microcirculation cutanée, excepté pour le laser Doppler cutané. Les techniques classiques d'explorations isotopiques avec des émetteurs γ , même de faible énergie, ne permettent pas de caractériser la microcirculation, en raison d'une trop forte contribution des tissus sous-cutanés. L'utilisation d'émetteurs β principalement mono-énergétiques, permet une autre approche. Les modifications du spectre en énergie β , analysées par différentes méthodes quantitatives sont proportionnelles à l'épaisseur d'écran intercalée entre la source radioactive et le détecteur. A l'aide de fantômes simples et complexes, composés d'écrans en équivalents tissus et de sources de ^{32}P disposées à différentes profondeurs dans ces fantômes, il a été possible d'étudier la dégradation des spectres β , simulants respectivement les niveaux vasculaires sous-épidermique et sous-dermique. Une modélisation et une étude expérimentale *in vivo* sont rapportées dans cette étude, avec du ^{32}P -phosphate injecté par voie veineuse à des porcs.

Mots clés: peau, porc, rayonnement beta, spectrométrie, microvascularisation

SUMMARY

Non invasive methods of study of the skin blood flow are numerous, but generally do not give any indication on the cutaneous microcirculatory flow, except for cutaneous laser Doppler. The isotopic exploration of the skin with injected γ radionuclides, even of weak energy, does not allow to characterize the skin blood flow, because of the important contribution of the sub-cutaneous tissues. The use of β emitters, mainly mono-energy emitters, could allow an other approach. The modifications of the β energy spectrum, analyzed by different quantitative methods, are proportional to the thickness of the screen localized between the radioactive source and the detector. Using simple and complex phantoms composed of tissue equivalent screens, with ^{32}P sources placed at different depths, it was possible to study the degradation of β spectra, simulating respectively the sub-epidermis and sub-dermis vascular levels. A modelization and an experimental study *in vivo* are proposed in this work, with ^{32}P -phosphate administered intravenously in pigs.

key words: skin, pig, beta radiation, spectrometry, microvascularisation

MESURE DE LA CIRCULATION SANGUINE CUTANEE CHEZ LE PORC IRRADIE A L'AIDE DE RADIOISOTOPES EMETTEURS β

I - INTRODUCTION

Les altérations de la circulation cutanée sont au coeur des processus pathologiques qui se développent après une irradiation aiguë localisée. Au niveau des capillaires et des vaisseaux superficiels, les atteintes fonctionnelles s'ajoutent aux lésions cellulaires endothéliales. Les conséquences seront l'apparition de congestion active, d'oedème avec extravasation plasmatique, de congestion passive, de thrombose, d'ischémie et enfin de nécrose.

Les méthodes d'exploration atraumatiques sont nombreuses, mais en général ne donnent qu'en deuxième intention une indication sur le débit sanguin cutané, comme par exemple la thermographie, la conductivité thermique ou la mesure de pression partielle d'oxygène. Seules les mesures par laser Doppler peuvent donner une valeur précise, compte tenu de la qualité de l'étalonnage.

L'exploration isotopique avec des émetteurs γ , même de faible énergie, injectés dans la circulation sanguine, ne permet pas de caractériser la circulation superficielle, à cause de l'importante contribution des tissus profonds.

L'utilisation d'émetteurs β purs, de préférence mono-énergétiques, pourrait permettre une autre approche: l'importance de la dégradation du spectre β , quantifiée par diverses méthodes d'analyse, est proportionnelle à l'épaisseur de l'écran, c'est-à-dire à l'épaisseur des couches de cellules du tissu cutané, entre la source et le détecteur. On peut donc espérer ainsi définir la profondeur à laquelle se trouve le lit vasculaire d'où est issu le rayonnement et caractériser les oedèmes, les stases et les mises hors circuit des anses capillaires.

Dans un modèle plus complexe, utilisant un fantôme composé de plusieurs couches d'équivalent tissu avec des couches actives placées à des profondeurs différentes, on pourra étudier la dégradation des spectres β issus d'une couche profonde et d'une couche superficielle, simulant respectivement les plexus vasculaires sous-dermiques et sous-papillaires.

Un essai de codification et de modélisation de cette technique est proposé dans ce travail, à partir du ^{32}P -phosphate administré par voie endoveineuse chez le porc.

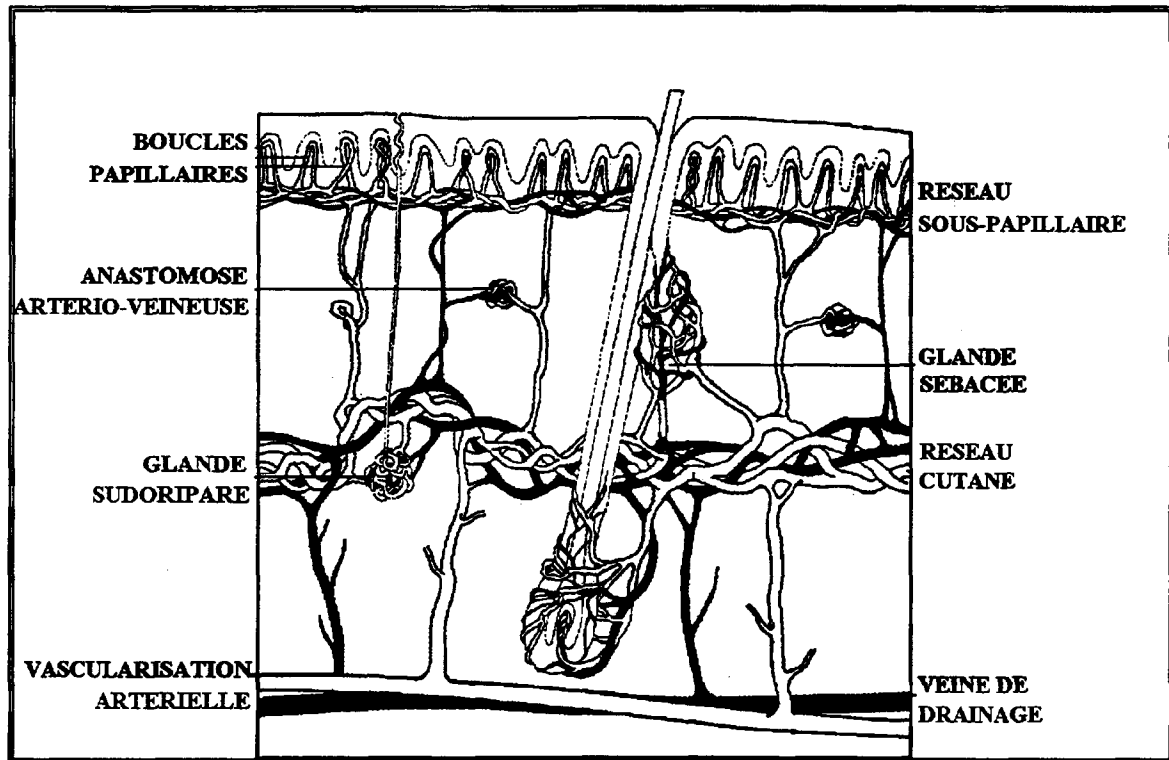
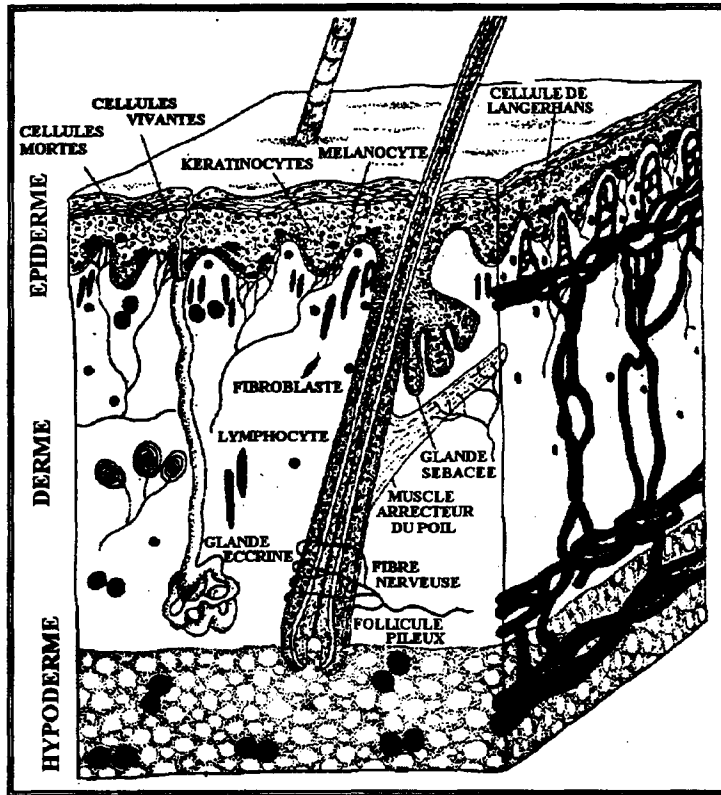


Figure 1: morphologie de la peau humaine (d'après: Edelson & Fink, 1985; Wheater et al., 1979).

II - RAPPEL ANATOMIQUE ET PHYSIOLOGIQUE

Vaisseaux sanguins et lymphatiques (Riant, 1989; Hopewell, 1990; Reinhold et coll., 1991). La *figure 1*, d'après Edelson et Fink (1985) et Wheeler et coll., (1979) représente schématiquement la morphologie, notamment la vascularisation artérielle et veineuse, de la peau.

La peau est très vascularisée et le débit sanguin en est très régulé, particulièrement chez les espèces sans fourrures (ou chez les animaux présentant une dépilation consécutive à une irradiation). Le flux sanguin dépend davantage de la thermorégulation que des besoins nutritionnels: chez l'homme et le porc près de 90 % du flux sanguin est destiné à assurer la régulation thermique de l'individu: les anastomoses vasculaires et les échanges de chaleur à contre courant entre les artères et les veines jouent un rôle important. Cette observation explique l'extrême variabilité des mesures de débit sanguin réalisées après irradiation chez le porc, mais aussi la souris et le rat.

Chez l'homme le flux sanguin cutané au repos est d'environ 3 ml/min./100g de tissu (valeurs extrêmes: 2,3-6,5), soit 16 % du débit cardiaque; à l'effort ce flux peut dépasser 20 ml/min./100g, soit 50 % du débit cardiaque (Spector, 1956).

Le flux sanguin a été évalué à l'aide d'un laser Doppler par Monteiro-Rivière et coll. (1985) sur diverses espèces animales. Chez le porc comme chez le lapin et le rat, le débit moyen est de 3 ml/min./100g au niveau de la cuisse et du flanc, de 6-7 au niveau de l'articulation scapulo-humérale et 10-12 au niveau des oreilles et de la ligne blanche.

II-A LES ARTERES

L'apport sanguin se fait par des séries d'artères segmentaires dont chacune irrigue une petite zone cutanée. Ces vaisseaux (perforants) passent à travers le faisceau musculaire profond et se divisent à la jonction du tissu adipeux et du derme, formant le plexus dermique profond qui va irriguer le tissu adipeux sous-cutané et les annexes cutanées. D'autres vaisseaux importants cheminent plus ou moins longuement dans l'hypoderme et n'irriguent que la peau et les tissus sous-cutanés.

Schématiquement chez l'Homme, quelle que soit l'origine des artères, elles émettent à la partie profonde de l'hypoderme de nombreuses branches qui forment un réseau à larges mailles s'anastomosant entre elles. De ce réseau hypodermique naissent des artères (\varnothing moyen $\sim 120 \mu\text{m}$) qui traversent le tissu adipeux hypodermique sans émettre pratiquement de collatérales. En position immédiatement sous-dermique ces artères bifurquent et s'anastomosent pour former un second réseau, parallèle au premier, le réseau sous-dermique; ce réseau situé en moyenne à 1,5 à 2 mm sous la surface cutanée donne naissance à des vaisseaux de 50-80 μm de diamètre qui pénètrent dans le derme et forment à la partie superficielle de celui-ci un réseau sous-épidermique (\varnothing compris entre 10 et 15 μm) d'où naissent à angle droit les artères terminales; ce réseau est situé à environ 0,1 à 0,2 mm sous la surface cutanée. Les artérioles terminales (\varnothing moyen 8-10 μm) donnent naissance, sans s'anastomoser, aux circuits capillaires sous-papillaires.

Certaines artères traversent le derme et gagnent directement le plexus sous-épidermique d'où elles se divisent en deux branches horizontales (artères en candélabre). De riches réseaux artériolaires accompagnent toujours l'invagination dans le derme des annexes épidermiques (follicules pileux, tubes droits des glandes sudoripares); un réseau artériolaire très dense se trouve dans le lit de l'ongle autour de sa racine et est accessible aux examens externes (capillaroscopie).

II-B LES VEINES

On décrit en général deux réseaux anastomotiques veinulaires superficiels situés

approximativement au niveau du plexus artériolaires sous-épidermique. Le premier (\emptyset compris entre 20 et 50 μm) draine le sang issu des capillaires et communique avec le second plus profond (\emptyset moyen 50 μm). Un troisième réseau veineux existe dans le derme réticulaire (plexus intermédiaire, \emptyset moyen 70 μm). C'est dans cette zone que l'on observe les anastomoses les plus nombreuses entre les réseaux artériels et veineux. Les veines cutanées, d'un diamètre compris entre 300 et 1500 μm forment un quatrième plexus dans l'hypoderme en position sous dermique, le plexus profond. Quelques unes de ces veines valvulées suivent les artères musculo-cutanées à trajet profond, la plupart restent en position sous cutanée. Les deux systèmes peuvent se suppléer en particulier pour le retour veineux des membres.

Les anastomoses artério-veineuses sont caractéristiques de la circulation cutanée. Elles sont formées en général de trois portions distinctes: un segment initial (\emptyset 35 μm) dont la paroi est riche en cellules musculaires lisses, une portion intermédiaire à paroi très épaisse entourée d'un manchon nerveux qui permet de contrôler les débits, et un segment veineux de large diamètre et à paroi mince.

II-C LES CAPILLAIRES

La plupart des réseaux capillaires cutanés sont situés dans le derme papillaire où l'on observe, chez l'homme et le porc, 60 à 75 anses capillaires par millimètre carré, soit 12 à 14 fois plus que dans le derme réticulaire. La peau est pauvre en vaisseaux capillaires: 6000 par centimètre carré contre 50000 dans le muscle squelettique. Ce sont les artérioles et surtout les veinules qui font la densité du réseau vasculaire cutané.

II-D LA MICRO-CIRCULATION

Elle joue un rôle capital dans l'installation et l'évolution des lésions et il nous semble utile de faire quelques rappels anatomique et physiologique à ce sujet.

II-D-1 Anatomie (Wiedeman et coll., 1981).

On considère généralement que le terme de micro-circulation s'applique aux vaisseaux dont le diamètre est inférieur ou égal à 20 μm . Le capillaire ne doit pas être considéré en tant qu'élément unique mais en tant que composant d'une unité anatomique fonctionnelle qu'on pourrait appeler unité micro-circulatoire. On peut distinguer plusieurs parties dans cette unité:

- 1 - la partie terminale de l'artériole afférente;
- 2 - le canal préférentiel, qui met directement en communication l'artériole afférente et la veinule efférente; la partie initiale (du côté artériel) est entourée de fibres musculaires contractiles, qui manque du côté veineux et qui constituent la méta-artériole;
- 3 - les capillaires *stricto sensu* (capillaires vrais) prennent naissance au delà de la méta-artériole et se terminent du côté veineux, dans la partie distale du canal préférentiel, après avoir constitué un réseau: la longueur de leur trajet est variable et leur diamètre est de 5 à 10 microns. Enfin, du côté de leur origine artériolaire, les capillaires sont dotés d'un sphincter musculaire (sphincter précapillaire);
- 4 - les canaux de Suquet (canaux artério-veineux) réalisent, à côté des canaux préférentiels, une communication artério-veineuse directe, en amont de l'unité macro-circulatoire; leur tunique musculaire importante leur confère des propriétés vasomotrices;
- 5 - la veinule efférente.

Ainsi le capillaire *stricto sensu* n'apparaît pas comme une voie obligatoire de circulation, mais comme une voie de dérivation placée sur les anastomoses directes artérioles-veinules. Les capillaires sont des tubes passifs non contractiles: la partie vasomotrice de l'unité micro-circulatoire est constituée par les sphincters précapillaires, composés de cellules musculaires lisses richement

innervées et par les canaux de Suquet qui possèdent quelques cellules musculaires lisses disséminées.

II-D-2 Physiologie (Bargeton et Durand, 1963)

L'unité micro-circulatoire fonctionne comme si elle comportait deux circuits distincts: 1) un circuit métabolique constitué par des capillaires vrais qui assure les échanges métaboliques avec le milieu interstitiel (extra-cellulaire); 2) un circuit de shunt composé du canal préférentiel et des canaux de Suquet qui assure la régulation et la distribution des flux sanguins, principalement par le jeu des sphincters précapillaires. Ces derniers représentent le point ultime où peut se faire l'influence de la vasomotricité générale car l'existence d'une innervation motrice en aval des sphincters capillaires n'a pas été démontrée. Il semble que les changements de débit capillaire soient le reflet passif des réactions vasomotrices en amont (artères et artérioles) aux stimuli nerveux et humoraux, ou en aval (système veineux). Néanmoins, il semble que les cellules endothéliales soient sensibles aux conditions physico-chimiques de leur environnement (température, pH, rH). Le canal préférentiel draine à l'état normal 50 à 70 % du flux sanguin. Il est probable que dans ces conditions ce circuit soit suffisant pour assurer les échanges avec les tissus et que la circulation capillaire vraie n'entre en jeu que lorsque l'activité métabolique s'accroît: selon les tissus étudiés le débit peut varier d'un facteur 5 à 20. La diffusion de l'oxygène dans les tissus à partir des capillaires peut être évaluée à 180-200 µm.

La circulation dans les capillaires s'effectue sous la forme d'un écoulement laminaire qui entraîne la formation d'une veine centrale constituée surtout d'éléments figurés et d'une veine périphérique plasmatique pratiquement immobile.

Conclusion. On peut donc distinguer dans le débit sanguin total au niveau de la peau un débit fonctionnel, à faible capacité d'extraction et utilisant les shunts artérioveineux et les courts circuits capillaires, et un débit nutritionnel avec des échanges sans restriction dans tout le réseau capillaire. A titre d'exemple la part du flux fonctionnel est très élevée dans la peau, alors que dans le cerveau la part du flux nutritionnel est la plus importante (Reinhold et coll., 1991).

II-D-3 Facteurs influant sur le débit sanguin cutané (Serup, 1995)

Age	largement indépendant
Sexe	peu ou pas de différence
Cycle menstruel	<i>id</i>
Race	<i>id</i>
Site anatomique	variations considérables
Attitude	dépend de l'orthostatisme
Temporel diurne	peu ou pas de différence
Temporel journalier	différence significative
Activité physique	effet considérable
Alimentation	<i>id</i>
Produits pharmaceutiques	<i>id</i>
Température	effet très important

II-D-4 Perméabilité capillaire. Le passage de liquide dans un sens ou dans l'autre dépend, de la résultante de quatre forces indépendantes: 1) la pression osmotique des protéines (pression oncotique) du plasma et 2) la pression oncotique des liquides interstitiels, dont la somme algébrique constitue la pression oncotique efficace; 3) la pression mécanique du sang dans les capillaires; 4) la pression mécanique du liquide interstitiel dont la somme algébrique donne la pression de filtration. Lorsque la pression oncotique est plus faible que la pression de filtration, il y a passage d'eau du plasma vers le liquide interstitiel et inversement. La pression oncotique du plasma dépend de la

perméabilité capillaire vis-à-vis des protéines: elle s'abaisse lorsqu'il y a passage d'une partie des protéines plasmatiques vers le liquide interstitiel, comme dans le cas d'un processus inflammatoire; dans ce cas l'augmentation de la perméabilité endothéliale est dépendante de la forme et de la configuration des cellules endothéliales, déterminées par les altérations d'éléments du cytosquelette tels que la β -actine, et régulées par des seconds messagers intracellulaires, tels que le calcium libre cytosolique (Malik et coll., 1989).

Remarque générale sur l'organisation des vaisseaux sanguins (Martineaud et Séroussi, 1977)

L'endothélium est très distensible; dans le cas des capillaires il ne s'oppose à la déformation que par le tissu conjonctif qui l'entoure: lors de la fermeture des capillaires, la protrusion des noyaux dans la lumière rétrécie constitue un véritable bouchon qui l'obstrue totalement. Les fibres élastiques sont présentes dans presque toutes les parois vasculaires; elles sont nombreuses dans les artères de diamètre supérieur à 1 mm mais sont absentes dans les plus petites, les veinules et les capillaires; leur disposition est surtout hélicoïdale. Les fibres collagènes sont présentes dans tous les vaisseaux sauf les capillaires; elles ont un rôle de protection contre les ruptures lors d'une distension trop importante des fibres élastiques. Les fibres musculaires lisses sont abondantes dans les parois des artères de petit calibre (1-5 mm), des artérioles, des anastomoses artério-veineuses, des veinules et même des grosses veines.

III - RADIOPATHOLOGIE

III-A- LES VAISSEAUX- Aspects anatomo-pathologiques

III-A-1 Généralités

A côté des effets aigus consécutifs aux fortes doses d'irradiation, les tissus irradiés présentent souvent des modifications vasculaires longtemps après exposition. Par ailleurs, il est maintenant bien établi que le temps de renouvellement des cellules endothéliales est très long. Ces deux observations ont conduit certains auteurs à estimer que le dommage vasculaire était responsable de toutes les lésions tardives dues aux rayonnements. Mais, compte tenu des rapports étroits entre les éléments vasculaires et le parenchyme, il est très difficile de déterminer si les effets tardifs sur les cellules du parenchyme sont une conséquence directe de l'irradiation ou le résultat indirect des atteintes des éléments des tissus vasculaires et conjonctifs.

La réponse des gros vaisseaux est influencée par la structure cellulaire de la paroi vasculaire, le lent renouvellement des cellules vasculaires et les mécanismes de réparation; la radiosensibilité (appréciée par la valeur de D_0) des cellules musculaires lisses des parois artérielles est chez le rat voisine de 1,5 Gy (Rosen et al., 1985). Les doses modérées ou élevées d'irradiations fractionnées pourraient être associées à un développement accéléré de l'athérosclérose (Hayward, 1972), à l'accumulation de cellules spumeuses entre la média et l'endothélium (Zollinger, 1970) et à la rupture des gros vaisseaux (Fajardo et al., 1971). L'imbibition de la paroi par le plasma conduit au rétrécissement de la lumière et même à l'oblitération complète. Toutefois, il ne faut pas négliger le rôle de la fibrose radio-induite dans les tissus sous-jacents qui, soit directement (en exerçant une pression sur les vaisseaux), soit indirectement (en limitant la contraction musculaire), réduisent le débit sanguin. Takahashi (1977) a réalisé une étude micro-angiographique par colorant chez la souris irradiée entre 2,5 et 40 Gy (RX 250 kVp): pour 10 Gy et en dessous il n'y a pas de modification du

diamètre et du volume vasculaire; les lésions apparaissent à 20 Gy et on peut supposer une réaction par tout ou rien avec un seuil compris entre 10 et 20 Gy.

Le rôle apparemment primordial des lésions vasculaires, et particulièrement celles des capillaires dans la pathogénie des lésions tissulaires radio-induites, nous a conduit à en développer l'étude de façon particulière au niveau du tissu cutané et sous-cutané.

Alors que les modifications fonctionnelles (vasodilatation, augmentation de la perméabilité capillaire, oedème) sont immédiates et patentes après les doses d'irradiation comparables à celles employées en radiothérapie (équivalentes à une exposition unique à 20 Gy ou moins), les lésions histologiques (morphologiques) ne sont visibles en microscopie optique qu'après quelques semaines à quelques mois: une irradiation à ces doses ne délivre aux cellules qu'une faible quantité d'énergie et n'entraîne leur mort qu'après une ou plusieurs divisions cellulaires (Phillips, 1972). C'est ce qui semble se passer dans le cas de l'endothélium vasculaire où l'on ne voit apparaître des lésions qu'après un long délai. Néanmoins la microscopie électronique a permis de mettre en évidence au niveau des capillaires des lésions précoces et significatives.

Rubin et coll.(1991) ont récemment regroupé les différents aspects de la réponse *in vivo* des cellules endothéliales à l'irradiation:

- 1 - le premier signe est le ralentissement de la progression dans le cycle cellulaire;
- 2 - avant la perte ou la lyse cellulaire, on observe une réduction de l'incorporation de la ^3H thymidine et une augmentation de la distribution en phase S (Rubin et al., 1986), une augmentation de l'adhésion des polynucléaires sur les cellules endothéliales (Hopewell, 1980; Dunn et al., 1986) et une augmentation du flux d'albumine et de saccharose à travers l'endothélium (Stone et al., 1987), responsable de l'oedème périvasculaire (Rubin et al., 1991);
- 3 - au moment de la lyse, il y a une augmentation des capacités de production de prostacycline PGI_2 (Rubin et al., 1985);
- 4 - après le début de la perte ou de la lyse cellulaire on note: 1) une hypertrophie cellulaire, (Rubin et al., 1989); 2) une redistribution au sein du cycle, avec une augmentation de G1 et de G2M et une diminution de S (Rubin et al., 1986, 1988); et 3) une augmentation de l'adhésion plaquettaire entre les cellules endothéliales (Rubin et al., 1985); 4) une augmentation de la production d'une activité chimiotactique pour les polynucléaires (Dunn et al., 1986).

Sur des cultures monocouches confluentes de cellules endothéliales (aorte bovine) et de cellules musculaires lisses, une exposition de 0 à 5 Gy de rayon γ du ^{60}Co entraîne chez les cellules endothéliales, en fonction du temps et de la dose: 1) une diminution de l'adhérence cellulaire; 2) une diminution des taux d'ADN, de protéines et de l'activité de l'enzyme de conversion; 3) une augmentation des taux de SOD et de LDH, avec un déplacement de LDH1 vers LDH4 et LDH5; 4) un relargage de LDH dans le milieu de culture, significatif dès 0,5 Gy et qui semble être la réponse la plus sensible des cellules endothéliales à une irradiation. Jusqu'à 5 Gy les cellules musculaires lisses ne montrent pas de modifications significatives (Rubin et al., 1984).

III-A-2 Lésions précoces (de quelques heures à quelques jours)

Zollinger (1970) a observé, 10 jours après la fin d'un traitement radiothérapique chez l'homme, l'apparition de cellules géantes, un gonflement des noyaux et une vacuolisation des cellules endothéliales: ces lésions évoluent vers la pycnose et la nécrose cellulaire. Par ailleurs, l'endothéliite vasculaire est plus précoce et plus intense au niveau des veinules (Moussard, 1963). Au niveau des capillaires du poumon de rat, Phillips et coll. (1972) ne détectent pas de dommages visibles en dessous de 15 Gy, même après plusieurs mois. Par contre, chez la souris, Adamson et coll.(1970)

décrivent les premières lésions cellulaires 2 jours après 11 Gy et 5 jours après 6,5 Gy. Hurley et coll. (1969) avaient déjà noté cette radiosensibilité de la souris en décrivant des altérations de la structure fine de l'endothélium des vaisseaux dont la perméabilité était augmentée 4-5 jours après une irradiation cutanée (RX 50 kVp) de 15 Gy chez la souris et de 20-25 Gy chez le rat. De plus, ils avaient observé des irrégularités et des excroissances au niveau de la lumière des capillaires, avec par endroit des solutions de continuité entre les cellules endothéliales.

Enfin Maisin et coll. (1976) ont observé, quelques heures après une irradiation unilatérale du poumon chez la souris (20 Gy), des modifications de l'ultrastructure des cellules endothéliales limitées à quelques zones peu étendues: dilatation des citernes du *reticulum endoplasmique*, disjonction des structures nucléaires, apparition de constituants anormaux dans le cytoplasme (gouttelettes lipidiques, précipités osmiophiles). La membrane cellulaire est altérée et même rompue en quelques points: il apparaît à ce niveau des agrégats de plaquettes et de fibrine, très adhérents à la basale. Quelques jours plus tard les lésions sont plus intenses: dans certaines zones, les cellules endothéliales se détachent de la membrane basale et forment des anses.

Krishnan et coll. (1987; 1988) ont précisé la chronologie des modifications de la perméabilité vasculaire après irradiation entre 2 et 30 Gy sur les membres de lapin: ils ont noté une augmentation immédiate de la perméabilité, même après 2 Gy; après 16-24 heures cette augmentation ne s'observe plus qu'au delà de 8 Gy et après 10-30 jours au delà de 15 Gy. Il existe donc un processus de réparation précoce, apparemment en relation avec la dose et avec le temps écoulé depuis l'exposition.

La plus grande partie du fibrinogène plasmatique extravasé est rapidement coagulé et maillé; ces phénomènes peuvent se produire en dehors de toutes cellules inflammatoires ou substances hypercoagulantes (Dvorak et coll., 1985); les dépôts de fibrine sont associés aux fibrocytes et histiocytes suggérant que la substance procoagulante dans les tissus normaux est associée à ces cellules. La perméabilité vasculaire est un important mécanisme régulateur pour le contrôle de la coagulation extravasculaire observée dans les phénomènes inflammatoires ou tumoraux.

Schwint et coll. (1990) ont étudié l'effet d'une irradiation sur la néovascularisation de la peau de rat, en suivant la répartition de l'activité peroxydasique. Ils ont observé une augmentation du volume vasculaire associé à une diminution de la longueur des vaisseaux, et à une modification de la répartition de leur calibre, ce qui signe le début de la télangiectasie. L'augmentation de la perméabilité capillaire est fonction de la dose et du délai après irradiation. La coïncidence étroite entre les zones exposées et les lésions capillaires suggèrent l'hypothèse que les lésions directes de la paroi vasculaire sont une des causes majeures des lésions radio-induites.

III-A-3 Lésions à moyen terme (quelques semaines à quelques mois)

Pendant cette phase intermédiaire, les capillaires ont un aspect normal dans la plupart des zones observées; Tannock (1972) ne voit pas d'augmentation de l'index mitotique chez la souris (0 - 2,4% pour l'arbre vasculaire du membre postérieur) avant 3 semaines après une dose de 20 Gy et avant 2 semaines après 40 Gy.

Dans les autres zones on observe un début de dégénérescence mais pas encore de signes cliniques. Archambeau et coll. (1995) ont proposé une méthode stéréologique pour quantifier les remaniements vasculaires à partir des images histologiques obtenues en deux dimensions (*Tableau 1*). On voit que le diamètre des vaisseaux irradiés augmentent environ d'un facteur 2, que leur volume varie peu et que la longueur des vaisseaux de diamètre < 10 μm diminue de 50 % alors que celle des vaisseaux plus gros ($\varnothing > 10 \mu\text{m}$) ne change pas.

Tableau 1: Histomorphométrie des microvaisseaux du derme papillaire.

	Témoins		Irradiés	
	0	0	16,5 Gy	23,4 Gy
Dose	0	0	16,5 Gy	23,4 Gy
Délai après irradiation (jours)	43	28	57	43
Ø des vaisseaux	6,0 ±0,3 µm	8,0 ±0,5 µm	10,7 ±0,6 µm	13,0 ±0,1 µm
Variation (%) du volume des vaisseaux				
Ø des vaisseaux < 10 µm	2,3 %	4,7 %	3 %	2,1 %
> 10 µm	1,6 %	0,7 %	0,7 %	2 %
Longueur des vaisseaux :				
Ø < 10 µm	180 mm/mm ³	157 mm/mm ³	93 mm/mm ³	89 mm/mm ³
Ø > 10 µm	38 mm/mm ³	32 mm/mm ³	25 mm/mm ³	39 mm/mm ³

Zollinger (1970) a le premier attiré l'attention sur le fait que les lésions capillaires sont beaucoup plus intenses si la région a subi une stimulation quelconque susceptible de favoriser la prolifération endothéliale, par exemple par un processus infectieux ou inflammatoire. Hopewell (1986) note une augmentation de l'index de marquage des cellules endothéliales 3 à 4 mois après 22,5 et 25 Gy, respectivement de $0,26 \pm 0,23$ à $1,06 \pm 0,55$ et de $0,19 \pm 0,08$ à $5,45 \pm 2,54$; aucune augmentation n'est observée après 15 et 20 Gy. L'index pour les muscles lisses passe pour 25 Gy de $0,05 \pm 0,03$ à $0,42 \pm 0,29$.

Chez le lapin, Fajardo et Stewart (1971) ont noté une augmentation de l'index de marquage des capillaires du myocarde exposé à 2000 R, significative de 30 à 70 jours, passant de 0,5 à 1,3%, valeur maximale au 35ème jour. Par contre, Tannock et Hayashi (1972) n'ont pas vu de modifications de l'index de marquage des capillaires de la peau et du muscle du membre postérieur de souris irradiées localement à 2000-4000 R: les observations étaient réalisées plus précocement, aux 12ème et 22ème jours.

L'exsudation des protéines plasmatiques hors de la lumière vasculaire, dans la paroi ou à l'extérieur des vaisseaux, est peu ou plus du tout drainée par les lymphatiques et provoque un épaissement hyalin de la membrane, puis une fibrose occlusive. Windholz (1937) avait déjà observé une prolifération de l'intima et une oblitération des veinules de la peau après 15 Gy dose unique ou 53 Gy dose fractionnée, chez l'homme; Zollinger (1970) a noté des thromboses des veines du derme chez l'homme 14 jours après 34 Gy (dose fractionnée).

Sams (1965) avait publié des observations analogues sur les lésions des artères et des veines des membres postérieurs de souris, 9 semaines après une irradiation à 20 Gy: les artères et parfois les artérioles montraient le plus fréquemment un épaissement de l'intima, souvent avec prolifération des fibres élastiques; les artères étaient contractées, ce qui, ajouté à l'épaississement de la paroi, réduisait considérablement leur lumière. Si les thromboses étaient rares dans les grosses artères, la lumière des artérioles était fréquemment obstruée par des bouchons de conjonctif dense (principalement de collagène) qui semblaient être parfois des thromboses organisées. Les lésions de nécrose de la paroi, exceptionnelles pour les grosses artères, apparaissaient parfois dans les petits

vaisseaux. Dans les grosses veines les lésions les plus fréquentes étaient les thromboses et l'on voyait souvent se développer des plaques irrégulières de collagène dans la partie de la paroi placée contre la lumière.

En conclusion, il est clair qu'aux effets directs de l'irradiation sur la paroi vasculaire s'ajoute la fibrose radio-induite qui se développe progressivement dans les tissus environnants, qui contribue également à réduire le flux sanguin et qui entraîne des thromboses des veines et à un moindre degré des artères.

Dans les capillaires pulmonaires Phillips (1966, 1972) a observé pendant cette période intermédiaire une extension des lésions à tous les capillaires pour des doses supérieures ou égales à 20 Gy. L'endothélium, souvent très vacuolisé, se décolle de la membrane basale et obstrue la lumière capillaire, s'associant à l'agrégation plaquettaire et à l'accumulation de débris nucléaires et cellulaires. Plus tardivement (2 à 4 mois), des mastocytes, du collagène et des cellules endothéliales envahissent l'espace capillaire atrophié et infiltré de plasma et de cellules plasmatiques extravasées. Dans le tissu musculaire cardiaque et squelettique, Fajardo et coll. (1971) ont décrit des lésions identiques au niveau des capillaires avec une diminution importante de leur nombre, davantage de dépôt de collagène mais moins d'infiltration cellulaire.

III-A-4 Effets à long terme (plus de 6 mois)

Les lésions tardives des capillaires, dans les zones où ils ont subsisté, sont en général moins intenses que celles de la paroi des vaisseaux plus gros. Elles consistent en un épaissement et des irrégularités de la membrane basale, et l'apparition çà et là, de cellules endothéliales anormales (Zollinger, 1970; Reinhold, 1974). D'autre part, on observe un raccourcissement progressif des glomérules vasculaires (boucles capillaires) au niveau des papilles dermiques, avec une diminution du nombre de cellules; dans la phase finale les boucles capillaires du derme ont disparu et il ne reste que les vaisseaux du plexus dermique profond (Archambeau et coll., 1995).

Mais il faut souligner que, même après plusieurs années, la réactivation de la zone irradiée par un stimulus quelconque (processus inflammatoire ou infectieux, acte chirurgical) révélera les lésions de l'endothélium avec gonflement du cytoplasme et du noyau, et mort cellulaire. Dans d'autres zones, les capillaires sont très dilatés, avec une membrane basale épaissie et oedémateuse; un grand nombre de cellules endothéliales ont été éliminées, la lumière est envahie de débris cellulaires, de cellules plasmatiques, de protéines extravasées puis de collagène. Parfois, des néocapillaires se développent à partir des bourgeons vasculaires de type conjonctif dans les anciens espaces capillaires (Phillips et coll., 1972; Maisin, 1974), ou peut-être (Reinhold, 1974) à partir des cellules endothéliales subsistantes ou d'autres cellules prenant leur place (fibroblastes, cellules souches hématopoïétiques circulantes).

Les lésions des artéioles et des petites artères sont très comparables à celles observées dans le syndrome d'athérosclérose avec hypertension (Reinhold et coll., 1974). Antérieurement chez l'homme (Sheehan, 1944; Martin et coll., 1954) et chez le lapin rendu hyperlipémique par un régime spécial (Kirkpatrick, 1967) avait été mise en évidence l'apparition, après irradiation et au niveau des plaques fibrolipidiques nées dans l'intima, de "foam cells", c'est à dire de cellules bourrées de gouttelettes lipidiques ("cellules bulleuses" en histologie).

En ce qui concerne les parois des artères et des veines, un épaissement de l'intima a déjà été cité dans les lésions à moyen terme (hyalinisation à partir des protéines extravasées) et même souvent à un enserrement de tous les vaisseaux par une épaisse gaine fibreuse (Sams, 1965; Reinhold et coll., 1974). Déjà en 1899 Gassman avait noté une vacuolisation segmentaire et une dégénérescence des fibres musculaires de la paroi des artères cutanées après une irradiation chez l'homme. Jellinek

(1962), Sams (1965) et Brecher et Tessmer (1969) ont observé une fragmentation des fibres élastiques des parois artérielles, phénomène qui peut être responsable en partie de l'aspect tortueux des vaisseaux artériels dans les zones irradiées: cet aspect a été retrouvé par Tsuya (1971) en pratiquant des examens capillaroscopiques sur des survivants aux explosions atomiques de 1945 ayant reçu avant l'âge de 10 ans des doses aux moins égales à 1 Gy. Enfin, il faut ajouter à ces lésions particulières, les modifications importantes (dégénérescence et surcharge) qui peuvent prendre place dans toutes les couches de vaisseaux artériels, y compris les *vasa-vasorum* (Keijser, cité par Reinhold 1973).

III-B LA CIRCULATION SANGUINE - Aspects fonctionnels (Martineaud et Seroussi, 1977; Cabanne et Bonenfant, 1980)

La barrière endothéliale (Malik et coll., 1989) permet le libre échange de l'eau, mais est plus restrictive pour le passage des substances dissoutes, en général en fonction inverse de leur poids moléculaire; à la théorie des "pores" s'ajoutent le rôle primordial de la charge des substances dissoutes et de leurs capacités à se lier ou à être transportées par les cellules endothéliales. L'augmentation de la perméabilité endothéliale est dépendante des modifications de configuration des cellules endothéliales déterminées par les altérations des éléments du cytosquelette, comme l'actine, et régulées par les second messagers intra-cellulaires, tels que le calcium cytosolique libre. Une irradiation localisée va entraîner une inflammation (aseptique tant qu'il n'y a pas d'épidermolyse) de la peau et des tissus sous-jacents avec une participation vasculaire qui va évoluer selon différentes phases.

III-B-1 Congestion active

Après un bref épisode de vasoconstriction, on observe une poussée de vasodilatation qui signe le début des phénomènes vasculo-exsudatifs. Il y a accroissement du calibre des vaisseaux (artérioles, capillaires, veines) mais au contraire vasoconstriction des artères (Borak, 1942), encombrement de leur lumière par des entassements d'hématies, ralentissement du courant sanguin. Deux mécanismes peuvent être invoqués pour expliquer cet afflux de sang: ouverture de tous les sphincters précapillaires ou baisse du débit de l'extrémité veineuse de l'unité microcirculatoire, par mise en circuit des canaux de Suquet.

III-B-2 Exsudation

Le passage dans le tissu conjonctif des constituants liquidiens et cellulaires du sang est la conséquence de l'augmentation de la perméabilité vasculaire (veinules, capillaires) qui accompagne la congestion active. On peut distinguer l'exsudat séreux, composé d'eau, d'électrolytes et de molécules de petite taille (albumine) de l'exsudat fibrineux qui contient, en plus, des protéines de poids moléculaire élevé (fibrinogène, globulines).

L'exsudat séreux imbibe la substance fondamentale du tissu conjonctif en créant un oedème inflammatoire facilement résorbable. L'exsudat fibrineux entraîne un dépôt de fibrine qui, se combinant à la substance fondamentale conjonctive plus ou moins lésée, va donner une substance fibrinoïde très difficile à résorber, sinon par une véritable digestion enzymatique. On connaît depuis longtemps le rôle des lésions endothéliales dans la genèse de ces exsudats.

III-B-3 Thrombose-Ischémie

La réaction inflammatoire, à laquelle s'ajoutent les lésions vasculaires propres à l'irradiation, réunit les conditions optimales d'une coagulation sanguine intravasculaire: stase sanguine entraînant une agrégation des éléments figurés et une augmentation de la viscosité, lésions endothéliales qui vont mettre en contact le plasma d'une part, la couche basale et le tissu conjonctif d'autre part et qui va entraîner une activation du facteur XII, point de départ de toute la chaîne des réactions de

coagulation. Le rôle de la paroi vasculaire dans l'inhibition de la thrombose (relargage de l'activateur du plasminogène, formation de prostacycline, métabolite des prostaglandines et le plus efficace des anti-agrégants plaquettaires) n'est plus assuré (Fuster et Chesebro, 1981).

Après une irradiation, l'apparition précoce de microthrombi demande une exposition à une dose au moins égale à 20 Gy; Hopewell et coll. (1978) observent des occlusions locales dans les artères de la peau de porc après une dose de 23,4 Gy. Nous avons vu précédemment que les lésions histologiques des capillaires montraient dans ce cas un gonflement des cellules endothéliales et des décollements de la basale favorisant à ce niveau l'agrégation plaquettaire et les dépôts de fibrine. L'accumulation de liquides et de substances dissoutes (sels, protéines) dans la paroi des vaisseaux ("insudation") va entraîner leur épaissement, qui va entraver la circulation. Plus tard, si la dose n'est pas trop élevée, la prolifération excessive des cellules endothéliales survivantes va également entraîner des obstructions des petits vaisseaux (aspect en "chapelet de saucisses", Lindop, 1969; Hopewell, 1974). Enfin un quatrième phénomène augmentera le déficit circulatoire: le raccourcissement des capillaires et des artérioles après irradiation va entraîner des épaissements des parois plus ou moins nombreux et plus ou moins importants.

En conclusion, nous pouvons dire que la chronologie de l'apparition de l'ischémie dans les tissus irradiés dépend de la dose:

- 1 - pour des doses faibles les processus seront lents, en liaison avec l'installation de la fibrose des gros vaisseaux - surtout les artères (Zollinger, 1970; Law, 1978);
- 2 - pour des doses fortes l'ischémie se développera rapidement, d'abord dans des micro-zones après thrombose des capillaires, puis dans des volumes plus étendus à partir des thromboses artériolaires et veinulaires (Lefaix et coll., 1985); un autre facteur déterminant de l'ischémie serait une modification de ce que Rubin et Casarett (1968) appellent la barrière histohématique, par l'effet de l'installation des lésions endothéliales et de l'infiltration oedemateuse ("insudation") de la membrane basale, phénomène qui diminuerait considérablement les échanges entre les vaisseaux et les tissus;
- 3 - toutefois pour Karasek et coll. (1992) les cellules endothéliales des capillaires sont très résistantes à la mort par ischémie et peuvent supporter un très faible niveau d'oxygène (0,0001%) pendant 24 heures; l'anoxie "*per se*" ne serait pas responsable des lésions microvasculaires mais elle induirait la synthèse de nombreuses protéines régulées par l'oxygène; ces protéines activeraient les neutrophiles et entraîneraient les dysfonctionnements vasculaires observés.

III-B-4 Les aspects circulatoires

Ceux-ci sont aussi à prendre en compte dans l'installation du processus ischémie-nécrose. Une irradiation de la peau chez le chien entraîne pendant les premières semaines des spasmes vasculaires qui peuvent être levés par une injection de papavérine intra-artérielle (Bosniak et coll., 1969).

Reinhold et coll. (1974) ont dégagé un schéma général de réponse après irradiation: de 0 à 6 semaines on observe une augmentation de débit et de 6 à 12 semaines une diminution; au-delà, et selon la dose, on note soit une restauration, soit une persistance de la baisse pendant au moins 1 an. Dans certains cas où le débit sanguin est normal au repos, la réponse hyperhémique est faible à cause de l'incapacité d'adaptation à une demande élevée (effort, traumatisme, chirurgie).

Young et Hopewell (1976) ont confirmé ces observations sur la peau de porc en évaluant le débit sanguin par la clairance de ^{99m}Tc pertechnetate injecté en intra-dermique: le débit augmente jusqu'à la 6ème semaine, en relation avec la présence d'un érythème; au-delà et jusqu'au 9ème mois le débit sanguin cutané est inférieur à la normale, avant de récupérer après le 12ème mois. Au niveau de la poche jugale du hamster, le débit sanguin augmente dès la deuxième semaine après 20-30 Gy, alors

qu'il reste inchangé pour 10 Gy (Hopewell, 1976).

Une nécrose ischémique s'installe dans la peau de porc où l'on observe une réduction de 80% du débit sanguin au niveau du derme, 12 semaines après irradiation (Hopewell, 1980); ce phénomène se produit dans 50 % des surfaces irradiées après des doses de 20 Gy (Hopewell et Young, 1982). Pour des doses plus faibles apparaît une atrophie du derme (Hopewell, 1983). Chez les rongeurs les diminutions du débit sanguin cutané (Law et Thomlinson, 1978) et de la densité des vaisseaux sanguins (Takahashi et Kallman, 1977) n'entraînent pas une diminution de l'apport nutritionnel (Keyeux et coll., 1971; Glatstein, 1973) et ne provoquent pas de nécrose du derme. On retrouve ici le rôle important des différences dans la vascularisation cutanée de l'homme et du porc d'une part, et des rongeurs d'autre part.

Les doses les plus faibles après lesquelles on ait pu observer des effets sont de 1 Gy en ce qui concerne les modifications de perméabilité de la peau du lapin (Jolles et Harrison, 1966), et de 15 ou 8 Gy en ce qui concerne le flux sanguin respectivement chez le rat (Keyeux et coll., 1971) et chez le porc (Moustafa et Hopewell, 1979).

Conclusion

Les cellules cibles responsables des radiolésions au niveau du système vasculaire de la peau ont un temps de renouvellement long; ainsi les lésions n'apparaîtront que lentement. Elles affectent les capillaires, les artérioles, moins fréquemment les artères et très rarement les veines (Fajardo et Berthrong, 1981). Les modifications initiales après 2 à 4 mois sont associées à des pertes de cellules endothéliales, qui vont provoquer une prolifération anormale conduisant à des occlusions des vaisseaux et à une réduction de la taille du lit capillaire. Les lésions plus tardives sont associées aux pertes des cellules musculaires lisses dans un délai plus ou moins variable (17-18 mois).

Les conséquences de ce schéma chronologique dépendront des tissus, de leur physiologie et de leur possibilité d'adaptation: les lésions des parenchymes seront donc essentiellement différentes et n'apparaîtront que pour des doses et à des temps variables. L'extravasation du fibrinogène et le dépôt de fibrine extravasculaire qui en découle (Law et Thomlinson, 1978) ne sont qu'indirectement responsables de la fibrose tardive, dans la mesure où ce phénomène accroît l'ischémie tissulaire, l'activation des fibroblastes et l'augmentation de la synthèse et du dépôt de collagène.

IV - MATERIEL et METHODES

IV-A ANIMAUX (autorisation n°3255 de l'Office de Protection Animale)

Cinq lots d'animaux ont été utilisés successivement; il s'agissait de porcs femelles de race Large White, âgés de 4 à 5 mois et pesant entre 40 et 60 kg au moment des expériences. Les animaux sont soumis à 12 h de lumière artificielle et 12 h d'obscurité; ils reçoivent deux repas par jour. Pour toutes les interventions, les animaux sont manipulés sous anesthésie afin de limiter les effets du stress: prémédication par injection de 250 mg de kétamine (Imalgène 1000, ND), puis anesthésie gazeuse (O₂ 66 % et N₂O 33 % avec 2% d'halothane) avec une surveillance permanente de la saturation artérielle en oxygène; enfin les animaux sont replacés dans leurs cages pour le réveil.

IV-B CONDITIONS D'IRRADIATION

IV-B-1 Les sources d'irradiation

IV-B-1-a) Irradiation β

Les animaux ont été irradiés à l'aide d'une source plane circulaire de ⁹⁰Sr-⁹⁰Y (E_{max} β : 2,28 MeV), de 4,2 cm de diamètre (source scellée série II, Amersham type 2575). L'activité était de 1,85 GBq (\approx 50 mCi) au 16/07/87. Une protection de plexiglass de 1 cm d'épaisseur (\approx 172 mg/cm²)

rajoutée autour du boîtier porte-source permet d'appliquer celui-ci sans pression sur la peau en délimitant une surface collimatée de 4 cm de diamètre, en limitant les risques d'irradiation latérale. La distance source-peau est alors de 2,6 cm; dans ces conditions, le débit de dose, mesuré à l'aide d'une chambre à extrapolation et sous 7 mg/cm², était de 50,95 Gy/heure au 01/11/92.

Pour une source identique au contact, le rendement en profondeur dans la peau de porc a été estimé à (Peel et coll., 1984):

- 95 % à la couche basale de l'épiderme (70 µm - 7 mg/cm²)
- 90 % au niveau du plexus papillaire (140 µm - 14 mg/cm²)
- 50 % au niveau du plexus dermique (1400 µm - 140 mg/cm²)

IV-B-1-b) Irradiation γ

Dans certains cas (2ème et 3ème lots) l'irradiation β a été précédée d'une irradiation γ réalisée à l'aide d'une source collimatée de 192 Ir ($E_{moy} \gamma : 0,38$ MeV), de diamètre 2 cm pour une distance source-peau de 1,7 cm. Dans le cas présent une cale de plexiglass de 2 cm d'épaisseur était intercalée entre la source collimatée et la peau pour obtenir une surface exposée de 4,5 cm de diamètre, débordant légèrement la zone de 4 cm de diamètre irradiée par la source β .

Le débit de dose γ a varié de 0,7 Gy/min pour la 2ème expérimentation à 0,6 Gy/min pour la 3ème; le rendement en profondeur à 1, 2 et 3 cm correspond à 46, 25 et 15% de la dose à la surface de la peau.

IV-B-2 Les doses

Les irradiations étaient appliquées sur la peau du flanc des animaux préalablement rasée, entre la pointe du coude et la dernière côte, de telle façon que le bord inférieur des surfaces circulaires (4 cm de diamètre) exposées soit tangent à une ligne horizontale tracée au milieu de la cage thoracique. La répartition des doses appliquées au cours des différentes expériences est présentée au *tableau 2*.

Tableau 2: séries expérimentales

	rayonnement	dose (Gy)	dose (Gy)	dose (Gy)	dose (Gy)
1 er lot (n=6)	β	0	32	64	
2 ème lot (n=6)	γ	0	3,2	6,4	
	β	0	32	64	80
3 ème lot (n=5)	γ	0		8	
	β		48	80	96
4 ème lot (n=5)	β	0	32	64	96

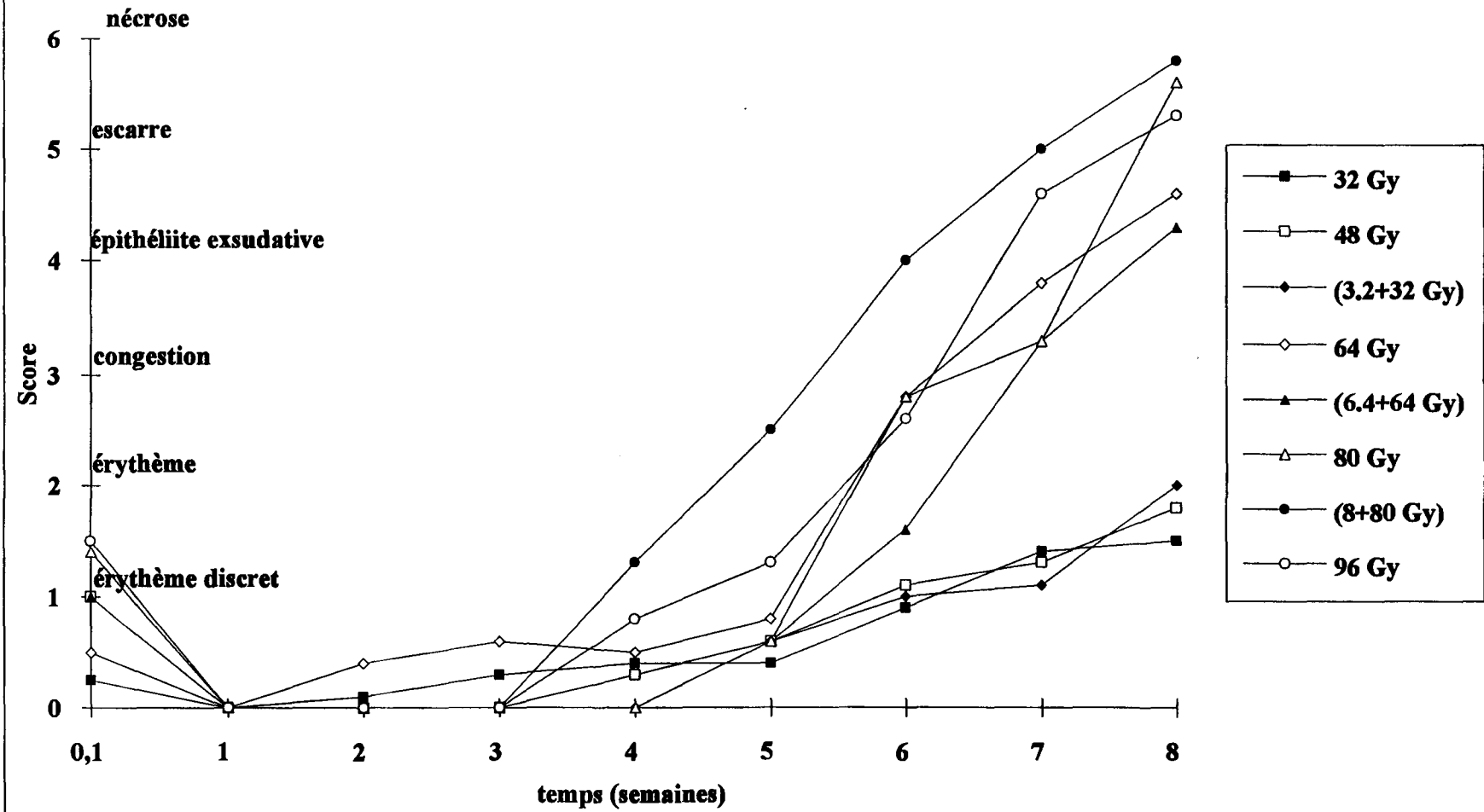
Le choix du rapport 1/10 pour les doses respectives d'exposition aux rayons γ et de β dans nos expérimentations a été suggéré par Barabanova et Osanov (1990); l'examen des accidentés de Tchernobyl avait conduit ces auteurs à évaluer le rapport des contributions des rayonnements γ et β dans les lésions cutanées entre 1/10 et 1/20.

IV-C EXPLORATION FONCTIONNELLE DE LA CIRCULATION CUTANEE

IV-C-1 Principales caractéristiques des radioéléments utilisés

Quatre radioisotopes ont été essayés, choisis en fonction de l'énergie maximale de leur

Figure 2: lésions cutanées après irradiation beta (90Sr) ou gamma + beta (192Ir + 90Sr-90Y)



rayonnement β ; pour la plupart une évaluation de la période effective chez le porc a été effectuée au LRA par la mesure quotidienne des excréta (*Tableau 3*).

Tableau 3: caractéristiques des radioisotopes (Lagoutine et coll., 1982)

Radioisotope	Période physique (jour)	% émission	EB max (keV)	Parcours maximal (mm-eau)	Période effective (jour)
^{32}P	14,28	100	1710	8	11,6 \pm 1,4
^{186}Re	3,77	71,6 21,5 [γ 9,4]	1076,6 939,4 [γ 137]	4	
^{169}Er	9,4	42 58	343,6 352	1	8
^{33}P	25,3	100	249	0,5	18,4

IV-C-2 Protocole expérimental

Le radioisotope ^{32}P , sous forme de phosphate de sodium (Oris P32-S-2), était injecté par voie endo-veineuse, pour une activité de 3,7 MBq (100 μCi); la dénomination classique "phosphate de sodium radioactif" correspond à un mélange de phosphates mono et disodique, en solution de pH compris entre 6 et 8. Un cathéter était placé à demeure (Braunule ND) dans une veine de l'oreille et était relié à un flacon de perfusion de sérum isotonique. Cette disposition permettait d'injecter les quelques millilitres contenant le radioisotope dans un flux rapide de perfusé, évitant ainsi des à-coups dans la courbe de charge mesurée au niveau de la peau.

Les mesures de la radioactivité étaient réalisées au moyen de sondes non collimatées, équipées de scintillateurs NaI activés au thallium, de 30 mm de diamètre et de 1 mm d'épaisseur. Ces sondes étaient placées en regard des zones irradiées, repérées sur la peau, et sur une zone témoin voisine.

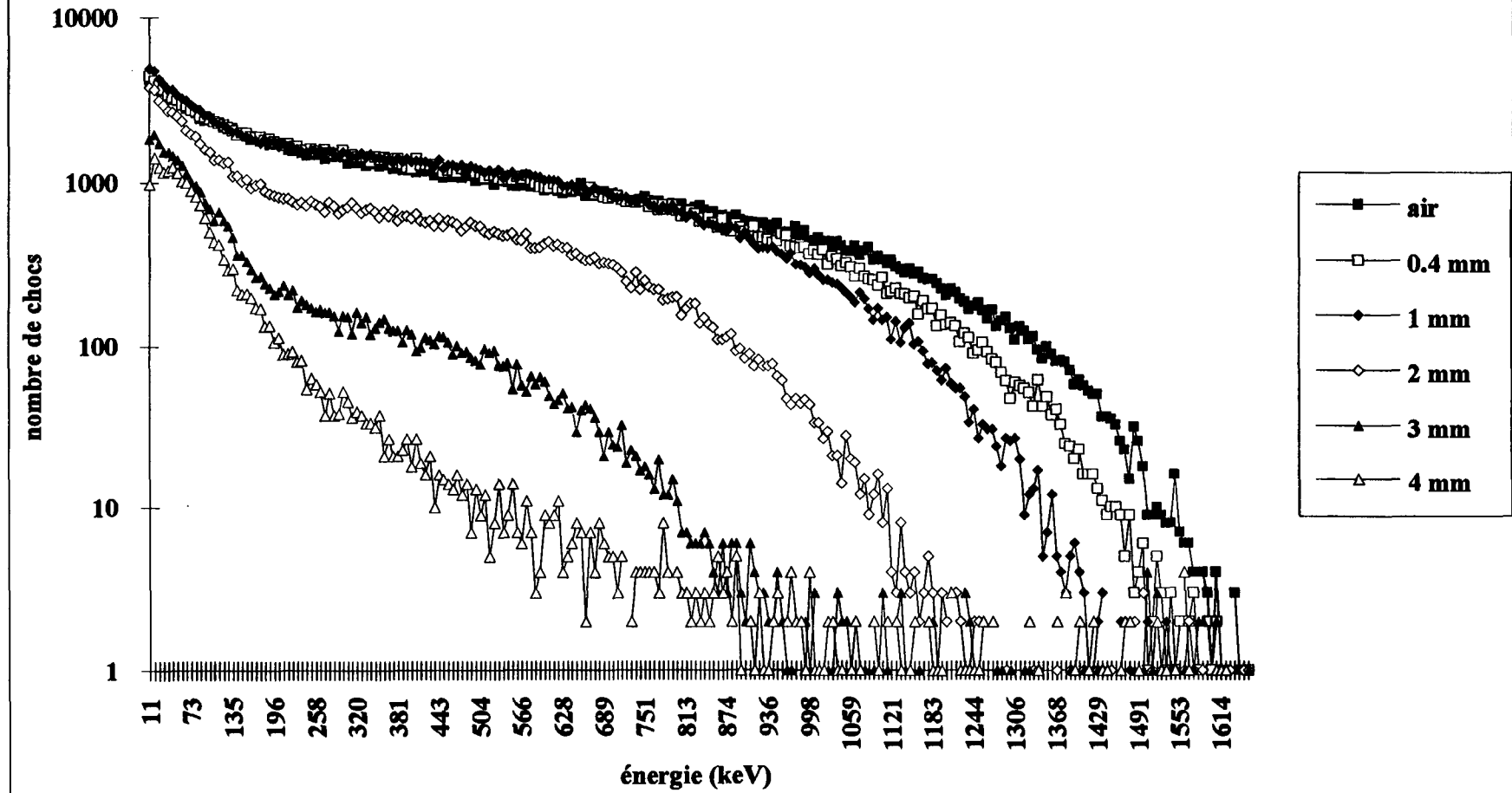
Les impulsions β étaient envoyées dans un analyseur Varro, fonctionnant en mode multispectre, avec un temps de stockage de 25 s et un temps de mise en mémoire de 5 s. Pour chaque spectre final, 50 spectres étaient ainsi stockés sur 25 minutes.

IV-C-3 Evolution clinique (*figure 2*)

L'évolution clinique chez le porc d'une exposition de la peau au rayonnement γ (^{192}Ir) a été décrite précédemment pour les doses comprises entre 120 et 340 Gy à la basale de la peau (Daburon et coll., 1984; Daburon et coll., 1985). Pour ces doses très élevées la succession des phases d'érythème, de congestion, de thrombose, d'escarre et de nécrose conduisant à un ulcère, est très rapide (quelques jours pour 260-340 Gy, et quelques semaines pour 120-160 Gy). Lefaix et coll. (1993) ont utilisé des doses plus faibles (entre 16 et 260 Gy) et ont observé que l'obtention d'une fibrose musculaire était conditionnée par l'apparition d'une desquamation humide de la peau, qui survenait pour des doses comprises entre 48 et 64 Gy à la basale.

C'est autour de ces valeurs qu'ont été choisies les doses appliquées avec le rayonnement β du

Figure 3: Phosphore 32: sources avec écrans dans l'air



^{90}Sr - ^{90}Y (Tableau 2). La figure 2 représente pour les différentes doses l'évolution clinique, avec sur l'axe des ordonnées une échelle arbitraire d'intensité des lésions: érythème discret, érythème et congestion passive (tardive). Les doses faibles (32-64 Gy) ne montrent qu'un érythème discret le premier jour, qui s'estompe rapidement, suivi par une phase silencieuse au 7ème; une certaine réactivité de la peau s'observe du 14ème au 35ème jour. Pour les doses de 80 et 96 Gy, l'érythème est plus marqué le 1er jour. Il semble qu'on assiste à une sorte de sidération de la réactivité cutanée entre le 7ème et le 21ème jour, alors que cette dernière est forte au delà du 28ème jour. La réaction la plus élevée a été observée après les doses associées (8 Gy γ + 80 Gy β).

IV-C-4 Analyse du spectre β (figure 3)

Le spectre β issu de chaque sonde était analysé sur 1710 keV et 256 canaux (6,85 keV par canal).

Divers points sont à noter en ce qui concerne cette analyse:

- 1 - une fenêtre mince de béryllium (37 mg/cm^2) est utilisée pour préserver l'étanchéité du cristal NaI à la lumière et absorbe 55,5 keV; l'énergie maximale du spectre analysé sera ainsi limitée à 1655 keV;
- 2 - la partie du spectre se trouvant en dessous de 100 keV est fortement perturbée par le rayonnement de freinage issu des tissus; le traitement du spectre n'a été réalisé qu'au dessus de 100 keV;
- 3 - l'étalonnage des sondes, la construction de la droite de conversion et la vérification de sa linéarité entre 100 et 1700 keV sont rendus très difficiles en raison du faible pouvoir d'arrêt du cristal mince vis à vis des hautes énergies gamma; le pic du ^{57}Co à 122 keV est bien visible, celui à 662 keV du ^{137}Cs est très aplati et enfin ceux du ^{60}Co à 1,17 et 1,33 MeV ne sont pas visibles; une incertitude demeure donc sur la linéarité de la réponse pour la partie terminale du spectre de ^{32}P vers les hautes énergies;
- 4 - la détermination de l'énergie maximale du spectre (canal d'intersection ou canal d'arrêt) est difficile avec ce type de représentation.

Les expériences *in vitro* ont été destinées à vérifier sur fantôme (sources ponctuelles ou planes) si l'analyse du spectre β permettait de déterminer des épaisseurs d'écrans de densité connue, placés entre la source et le détecteur (figure 3).

Deux méthodes peuvent être utilisées étudiant 1) la perte de l'énergie monocinétique de l'électron ou 2) la variation de l'énergie moyenne des rayonnements β .

IV-C-4-a) Méthode du pouvoir d'arrêt massique dE / dX .

Les valeurs de dE/dX sont données par des tables pour des valeurs discrètes de l'énergie et pour différents matériaux (Pagès et coll., 1970).

Schématiquement, considérons une source de ^{32}P émettant des β de 1710 keV d'énergie maximale; à la sortie d'un écran de plexiglass d'épaisseur dX , l'énergie devient E_1 et la perte d'énergie $dE = E_{\text{max}} - E_1$. On déterminera ainsi (Texier, 1994):

- 1 - la perte d'énergie dE due à l'écran de plexiglass donnée par les tables;
- 2 - la perte d'énergie due à la fenêtre de béryllium d'épaisseur d_{Be} calculée à partir des tables et selon les spécifications données par le constructeur, telle que $dE = E_1 - E_2$;
- 3 - l'énergie E_2 , énergie maximale enregistrée par le spectromètre β après passage à travers l'écran de plexiglass d'épaisseur dX et la fenêtre de béryllium d'épaisseur d_{Be} ;
- 4 - on déterminera l'énergie maximale E_1 du spectre des β issus de l'écran de plexiglass d'épaisseur dX selon la formule : $E_1 = E_2 + dE$

pour $E \geq 1$ MeV : $de / dx = 0,02 E + 1,46 \text{ MeVcm}^2/g$ dans le béryllium
 et : $dE / dX = 0,03 E + 1,75$ - - dans le plexiglass

IV-C-4-b) Méthode de l'énergie moyenne du spectre.

Principe: l'expérimentateur cherche à établir une relation entre l'énergie moyenne d'un spectre dégradé et l'épaisseur d'un écran interposé entre la source et le détecteur. L'énergie moyenne \bar{E} est calculée par la relation:

$$\bar{E} = \frac{\int_0^{E_{\max}} E(dC/dE)dE}{\int_0^{E_{\max}} (dC/dE)dE}$$

ou $\bar{E} = \Sigma(E_i \cdot C_{pi}) / (\Sigma C_{pi})$

avec: E_{\max} , énergie maximale du spectre de comptage; dC/dE , nombre d'impulsions par intervalle d'énergie dE , à l'énergie E du spectre; $(dC/dE)dE$, nombre d'impulsion dans l'intervalle d'énergie dE , soit le taux de comptage C_{pi} dans le canal correspondant d'énergie E_i du spectre.

Un étalonnage comparant l'épaisseur d'un matériau donné et l'énergie moyenne du spectre permet de calculer l'épaisseur d'un écran quelconque composé des mêmes matériaux.

IV-D PRINCIPES DE LA MESURE

IV-D-1 La forme du spectre β

Celle-ci dépend de l'énergie maximale E_0 et du numéro atomique Z de l'isotope émetteur; le pourcentage de β de faible énergie croît avec Z et avec $1/E_0$.

Les aspects quantitatifs de l'émission β sont basés sur la théorie de Fermi (1934), qui s'applique lorsque les particules β sortent du noyau radialement (sans moment angulaire) et où il n'y a pas d'interactions nucléaires (transition permise). La forme du spectre permis est uniquement déterminée par l'énergie maximale E_0 et le numéro atomique Z de l'isotope émetteur.

Si les particules β quittent le noyau tangentiellement, c'est à dire avec un certain moment angulaire, ou s'il y a des interactions nucléaires qui modifient l'émission, la transition est dite interdite. Le spectre interdit correspondant peut présenter une forme différente du spectre permis; il est souvent déplacé vers les faibles énergies.

Pour les radioisotopes naturels émetteurs β , la probabilité de transitions permises est 100 fois supérieure à celle des transitions interdites (diagramme de Sargent; Blanc et Ambrosino, 1960).

IV-D-2 La théorie de Fermi

Développée par Konopinsky (1966) et Wu (1974), permet d'obtenir la densité de probabilité d'avoir des électrons d'énergie comprise entre E et $E + dE$, en fonction de l'énergie et du Z de l'isotope émetteur (Cassette, 1992).

IV-D-2-a) La densité de probabilité de compter un nombre d'électrons d'énergie donnée peut, sous certaines hypothèses, s'exprimer comme le produit d'un facteur statistique, d'un facteur coulombien, d'un facteur de corrections radiatives, d'un facteur de forme et d'un facteur d'écran:

$$N(E) dE = p (E_0 - E)^2 \cdot F(\pm Z, E) \cdot L_0(\pm Z, E) \cdot (1 + \delta_r(Z, E)) \cdot C(E) dE$$

avec: E énergie totale de la particule en unités m_0c^2 ; E_0 énergie maximum d'émission β ; $F(\pm Z, E)$

fonction de Fermi donnée par des tables (USNBS, 1952); $L_0 (\pm Z, E)$, fonction définissant avec la précédente fonction l'interaction entre l'électron émis et le champ coulombien du noyau; $(1 + \delta_r (Z, E))$, expression quantifiant les corrections radiatives, normalement égales à quelques pour cent et prenant la valeur 1 pour un spectre normalisé en énergie des β ; et $C(E)$ coefficient dépendant de l'interdiction ($C(E) = 1$ pour les spectres permis).

- **Le facteur statistique.** L'émission β^- est due essentiellement à la transformation d'un neutron du noyau en proton : $n \rightarrow p + \beta^- + \nu$.

Dans la désintégration β^- la quantité de mouvement est conservée dans le système à 3 corps formé par l'atome résiduel, le neutrino ν et le β^- . En raison de la masse très élevée du noyau, la quantité de mouvement d'un β associé à un neutrino est déterminée par la conservation d'énergie et non pas par conservation des quantités de mouvement. La distribution statistique des quantités de mouvement des électrons dans le spectre d'émission β s'obtient en considérant le volume de l'espace accessible à un électron de quantité de mouvement: $\eta = (E^2 - 1)^{1/2}$, E étant l'énergie de la particule en unité $m_0 c^2$; on néglige, par hypothèse, l'énergie de recul du noyau et la masse du neutrino.

- **Le facteur coulombien.** Les β^- émis subissent l'effet d'une force coulombienne au voisinage du noyau: le β^- sera ralenti par la charge positive du noyau de sorte que le spectre final devrait contenir plus de β^- de faible énergie que ne le prévoit le facteur statistique seul (pour les β^+ les conséquences sont inverses).

- **Les corrections radiatives.** Ce terme rend compte de la possibilité de perte d'énergie de l'électron dans le champ du noyau par interaction électromagnétique (photons virtuels et rayonnement de freinage interne).

Il est assez peu dépendant de l'énergie pour les radionucléides dont l'énergie β maximale n'est pas très supérieure à la masse au repos de l'électron; la perte d'énergie représente quelques pour cent et le terme correcteur peut en première approximation être pris égal à l'unité.

- **Le facteur de forme** rend compte de l'altération de la forme du spectre lorsque la transaction est interdite.

- **L'effet d'écran.** La prise en compte du champ électrostatique des électrons du cortège conduit à modifier la fonction de Fermi en soustrayant, pour les β^- , au terme d'énergie la valeur du potentiel électrostatique responsable de cet effet.

IV-D-2-b) La représentation de Kurie ou de Fermi (Evans, 1961; Wu, 1966; Meyerhof, 1970) tente de déduire une expression analytique de la forme des spectres β en essayant de la faire coïncider avec une courbe empirique; cette courbe empirique est une droite dont l'intersection avec l'axe des abscisses (E) définit l'énergie maximale du spectre β .

La théorie de Fermi donne, pour les transitions permises, la formule suivante pour la distribution énergétique des particules β (Blanc et Ambrosino, 1960) :

$$N(E) dE = E \cdot F(EZ) (E^2 - 1)^{1/2} \cdot (E_{\max} - E)^2 dE \quad (1)$$

E , énergie de la particule

E_{\max} , énergie maximale du spectre β

$F(EZ)$ fonction de Fermi donnée par des tables

N.B. Les valeurs de E et E_{max} incluent l'énergie liée à la masse au repos m₀ de l'électron. Ces énergies sont exprimées en unité m₀c² pour éviter l'introduction de facteurs numériques.

En unité m₀c², le moment (ou quantité de mouvement) de la particule est :

$$\eta = (E^2 - 1)^{1/2}$$

ou, à partir des termes de l'équation (1) :

$$(E_{\max} - E)^2 = N(E) / [E \cdot \eta \cdot F(E)]$$

En fonction du spectre des moments N(η), en remplaçant E par η :

$$(E_{\max} - E)^2 = N(\eta) / \eta^2 \cdot F(\eta)$$

Si l'on considère un spectromètre β utilisant un scintillateur couplé à un analyseur avec une fenêtre de largeur constante, le taux de comptage est proportionnel à E.N(η) / η, E et η étant respectivement l'énergie et la quantité de mouvement de l'électron, N(η) étant le nombre d'électrons dans un intervalle constant de quantité de mouvement. Dans l'analyse de Kurie, la quantité [N(η) / η² · F(η)]^{1/2} est représentée, en fonction de E, par une droite. Une correction est nécessaire pour les hautes énergies; avec des sources minces et des précautions contre le diffusé, la linéarité s'observe jusqu'à 200-1000 keV (van Leeshout et coll., 1974); les écarts par rapport à la ligne droite sont dus à la diffusion et à la perte d'énergie des électrons dans la source radioactive.

Une autre formulation de la pente de la courbe (tang Φ) peut être (Llyod, 1958):

$$\tan^2 \Phi = n \cdot T \cdot K^2$$

avec K², constante indépendante de l'énergie; T, fraction des β émis dans un intervalle défini d'énergie et n, nombre d'atomes de la source; la pente de la droite dépend donc de l'activité de la source.

IV-D-3 Application *in vivo*

Après injection de ³²P, si l'on veut étudier le spectre β issu de la peau d'un porc comme une source β dans l'air, on calculera le spectre normalisé en énergie des électrons émis, c'est à dire, la densité de probabilité d'avoir des électrons émis avec une énergie comprise entre E et E + δE.

V - RESULTATS

V-A TRAITEMENT DES SPECTRES DE RAYONNEMENT β

Un certain nombre d'opérations sont nécessaires avant d'analyser les spectres β du ³²P mesurés à l'aide de 3 à 4 sondes à scintillation équipées de cristal mince NaI et du spectromètre Varro.

V-A-1 Etalonnage en énergie par des émetteurs γ

L'origine est au canal 0, le pic du ⁵⁷Co (122 keV) est au canal 18, le pic du ¹³⁷Cs (662 keV) au canal 97; la pente de conversion est donc de 6,85 keV par canal.

L'énergie maximale du spectre β est à 1710 keV - 55,5 keV (correspondant à la perte d'énergie due à la fenêtre de béryllium) soit 1655 keV: sur l'analyseur le spectre se termine au canal 242 ± 2.

L'énergie moyenne du spectre est définie par la formule:

$$\bar{E}_\beta = \frac{\int_0^{E_0} EN(E)dE}{\int_0^{E_0} N(E)dE}$$

où $N(E)$ est le nombre relatif de particules β dont l'énergie est comprise entre E et $E+dE$, calculé soit par intégration graphique sur le spectre, soit, pour les spectres permis, par la théorie de Fermi, en fonction de E_0 et de Z . Une approche empirique donne comme valeur de l'énergie moyenne le 1/3 de l'énergie maximale.

V-A-2 Rendement des sondes

Le rendement des sondes (cristal NaI, $\varnothing = 25$ mm et $e = 1$ mm) dans l'air, pour les expérimentations 2, 3 et 4 est identique et égal à 6 % ($\pm 1\%$) à 1 mm de distance, pour une source déposée à la surface d'un mylar. Par contre une correction de rendement a été nécessaire pour la première expérimentation, où l'une des trois sondes avait un cristal plus épais.

Sur les zones anatomiques non irradiées (témoin) les réponses sont un peu différentes, probablement en fonction de l'épaisseur de la peau; la sonde n°4, placée la plus en arrière, au niveau de la dernière côte, présente une contribution plus faible dans le pic des X.

Nous avons vu ci-dessus que la bande d'énergie de 0 à 345 keV (du canal 0 au canal 50) devait être exclue des calculs: elle représente cependant un fort pourcentage du taux de comptage au niveau de la peau.

V-A-3 Protocole de mesure: recherche de l'énergie maximale du spectre β

V-A-3-a) Dans l'air, le canal 242 (± 2) correspond à l'énergie maximale des β . Les derniers canaux du spectre étant très proches du bruit de fond, il est nécessaire, pour bien déterminer le canal d'intersection, d'ajuster le spectre dans sa partie régulièrement décroissante, entre le 50 et le 256ème canal, à un polynôme de degré 3. Dans ces conditions, le coefficient de corrélation se situe régulièrement autour de 0,94.

Une méthode plus précise fait intervenir la construction de la droite de Kurie, dont l'intersection avec l'axe des abscisses correspond à l'énergie maximale du spectre: le programme SPEBETA (Cassette, 1992) a été utilisé pour traiter les différents spectres que nous avons obtenus *in vitro* et *in vivo* (Cf IV-D-2-b).

V-A-3-b) Application au modèle peau: cas d'une source composée de deux couches radioactives simulant les deux lits capillaires (sous papillaire et sous dermique) de la peau de porc. Le spectre obtenu après injection endoveineuse de ^{32}P est donc la superposition de 2 spectres dégradés par les épaisseurs de peau correspondant à la profondeur de chacun des lits capillaires. Pour déterminer la part de chacune des 2 couches dans le spectre somme, il faut utiliser la méthode de soustraction des spectres:

- on détermine dans un premier temps la couche la plus superficielle, c'est à dire celle pour laquelle le spectre est le moins dégradé; l'énergie maximale de ce spectre est donc bien l'énergie maximale du spectre somme.
- l'épaisseur de la première couche est déterminée par l'une des méthodes définies aux paragraphes IV-C-4-a et b.

Si l'on utilise la méthode de l'énergie moyenne il faut calculer (\bar{E}) seulement pour les énergies supérieures à 1 MeV (qui correspondent à une épaisseur de 4 mm, supérieure à celle du derme + épiderme) pour s'affranchir de la contribution de la couche profonde.

En soustrayant du spectre somme le spectre reconstitué de la première couche, on obtient le spectre de la seconde couche dont on détermine l'épaisseur par la méthode de l'énergie moyenne, calculée pour un intervalle d'énergies comprises entre 100 keV et E_{\max} : le pic de rayonnement de freinage, qui dépend de l'épaisseur et de la nature des écrans traversés et de ce fait perturbe le spectre aux faibles énergies, se situe aux alentours de 50 keV.

V-a-3-c) Application *in vitro*

Le découpage des spectres a été réalisé selon différentes bandes d'énergie (*Figure 3*) pour obtenir la meilleure adéquation en fonction du nombre de coups obtenus (maximal) et de la variabilité du taux de comptage (minimal) en fonction d'écrans d'épaisseur croissante (*Tableau 4*).

Tableau 4: répartition du comptage en fonction des épaisseurs d'écrans.

épaisseur d'écran (mm)	1 - 50 canaux % du spectre	50 - 250 canaux % du spectre	150 - 250 canaux % du spectre	rendement % du témoin
0	51,1	48,8	6,4	100
0,4	53,1	46,9	4,1	90
1	54,5	45,4	2,2	45
2	66,5	33,4	0,3	13
3	85,3	14,7	0,3	4,2
4	95,6	4,4	0,4	2,5
peau de porc normale	87 - 91	9 - 13	< 1 %	

V-A-3-d) Application *in vivo*: les ajustements ont été réalisés en utilisant les 5 porcs de l'expérience 4, avec 3 doses et 1 témoin, et à différents temps J+1, J+7, J+14, J+21, J+28 et J+35. Peu de modifications ont été notées entre peau saine et peau irradiée pendant les premières semaines d'observation:

§ - la méthode dE/dX , évaluant l'épaisseur de l'écran constitué par la peau, donne en moyenne un déplacement de l'énergie maximale du canal 242 au canal 221 ± 6 , soit $21 \times 6,85 \sim 144$ keV. Les valeurs données par l'ICRU 37 pour cette valeur de l'énergie à travers les différents tissus sont: 187 keV/mm pour le tissu adipeux, 182 keV/mm pour le muscle et 189 keV/mm pour l'eau; nous pouvons donc prendre pour la peau et les tissus sous cutanés la valeur moyenne de 185 keV/mm. Si l'on considère le rapport $144/185$ avec 6,85 keV/canal on obtient une épaisseur de $0,76 \pm 0,22$ mm, à la fois pour la peau irradiée et la peau normale. Cette épaisseur correspond en réalité à la moitié du derme.

§ - La répartition des pourcentages d'activité dans les différentes bandes (*tableau 4*), qui peut être considérée comme une expression du canal moyen, assimile la peau à un écran d'épaisseur comprise entre 3 et 4 mm, ce qui correspond au réseau sous-hypodermique.

Remarque.

Il est évident que les deux modes de calcul développés au paragraphe IV-C-4-a, concernant 1 seul écran et 1 seule source d'activité, donnent, dans le cas de la peau où les sources d'activités correspondant aux différents lits vasculaires et les écrans correspondant aux

différentes couches cutanées sont multiples, des résultats différents. La méthode du pouvoir d'arrêt donnera la profondeur du réseau vasculaire le plus superficiel (1 source et 1 écran); la méthode dérivée de la détermination du canal moyen donnera l'épaisseur totale de la peau avec des sources multiples (les différents réseaux vasculaires) et des écrans multiples (les différentes couches cutanées). (Cf V-E-3). Dans ces conditions les résultats sont tout à fait cohérents avec les données anatomiques et physiologiques.

§ - Variabilité du taux de comptage en fonction des bandes d'énergie. Les mesures sont normalisées par rapport au spectre de la sonde n°4, placée systématiquement sur une zone non irradiée et choisie comme témoin; les 4 mesures sont réalisées, pour cette comparaison, sur 5 animaux non irradiés à J0 (Tableau 5).

Tableau 5: variabilité du taux de comptage en fonction des bandes d'énergie.

n° de la sonde	1 - 50 canaux	50 - 250 canaux	150 - 250 canaux
sonde n° 1	112 ± 21	99 ± 5	95 ± 25
sonde n° 2	115 ± 20	101 ± 5	97 ± 25
sonde n° 3	112 ± 13	101 ± 4	103 ± 20
sonde n° 4	100	100	100

En prenant en compte les résultats des deux tableaux précédents, il semble logique de choisir, avec les sondes NaI, la bande d'énergie entre 50 et 256 (en fait 242) canaux (soit entre 345 et 1655 keV).

V-B RESULTATS *IN VIVO* (pour les 4 groupes d'animaux regroupés au tableau 2)

La réponse des sondes placées sur la peau, irradiée ou non, après injection de phosphate radioactif (en fait mélange de phosphate mono et disodique en solution de pH 6-8) est la combinaison d'une courbe croissante et décroissante de la forme $A = A_{max} (1 - e^{-bt})$; en effet la pente de la courbe décroissante est très lente et l'on peut considérer comme un plateau le niveau atteint par le taux de comptage après 10 minutes environ et que l'on observe pendant 30 minutes.

Nous pourrions donc étudier les valeurs des deux paramètres A_{max} et b en fonction de la dose d'irradiation.

Dose (Gy)	0	32	48	64	80	96
nombre d'animaux	16	6	4	6	6	6

V-B-1 Evolution de A_{max}

La valeur du plateau est donnée en % de la valeur témoin observée sur la zone non irradiée aux différents temps de l'expérience (J+1, J+7, J+14, J+21, J+28, et J+35 après irradiation).

Les courbes regroupées aux figures 4 et 5 représentent l'évolution de l'activité (en cpm) mesurée, à l'équilibre donc égale à A_{max} , au niveau des zones irradiées, pour les différentes doses et les

Figure 4: mise à l'équilibre du ^{32}P après injection i.v., canaux 50 - 256
N° 39084, 24 heures après irradiation

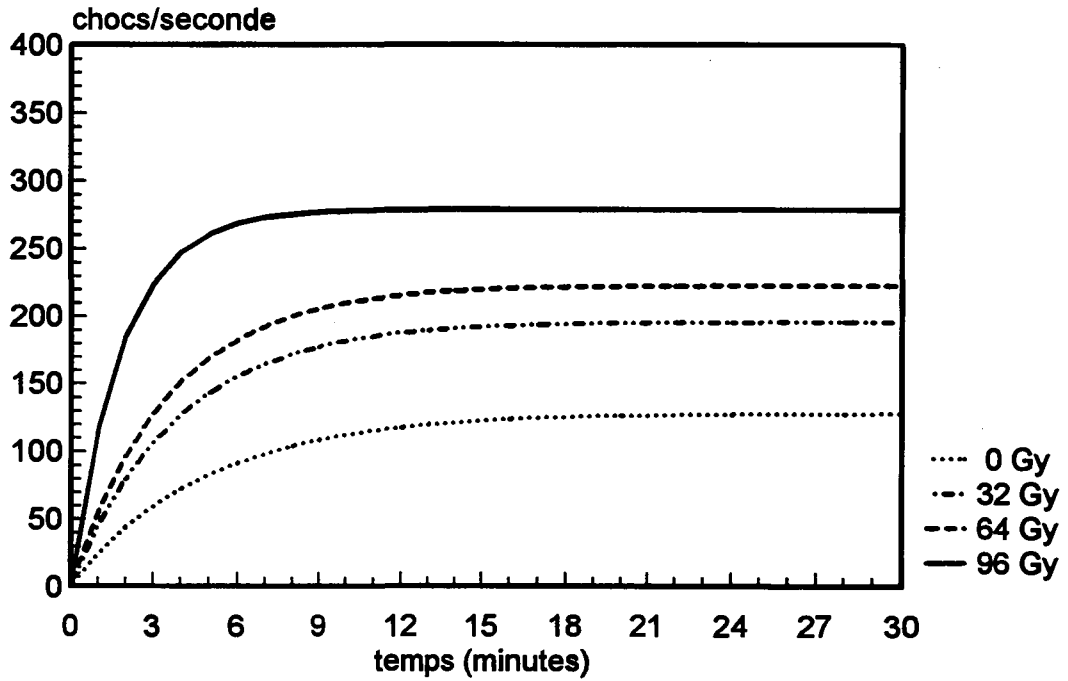


Figure 4: mise à l'équilibre du ^{32}P après injection i.v., canaux 50 - 256
N° 39938, 35 jours après irradiation

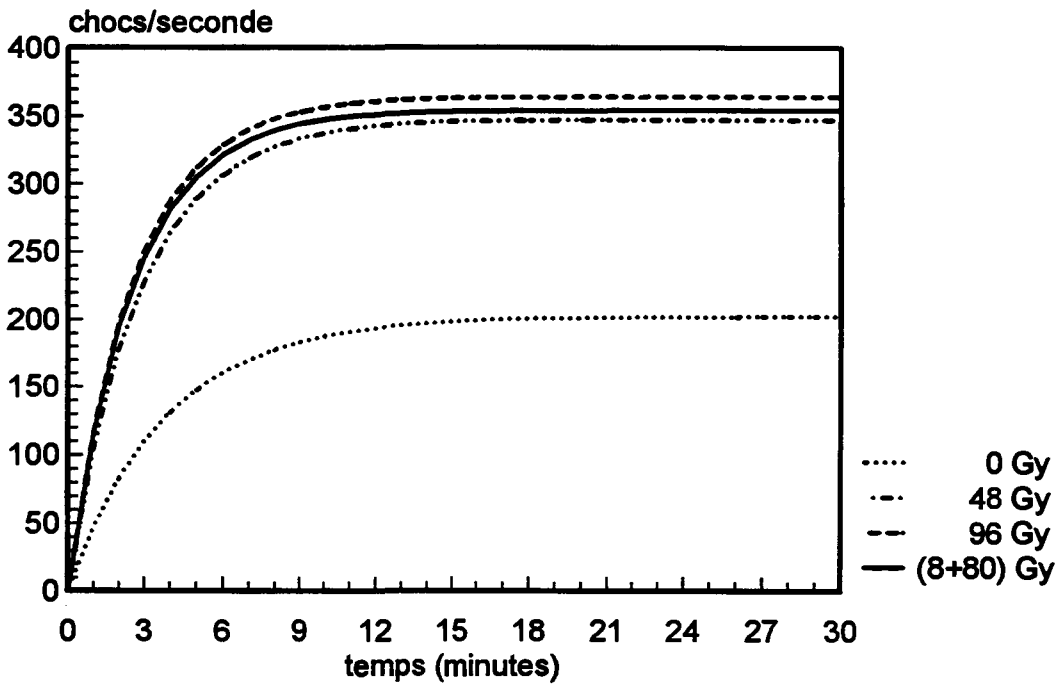


Figure 5: évolution de la moyenne des chocs par zone irradiée, canaux 50 - 256

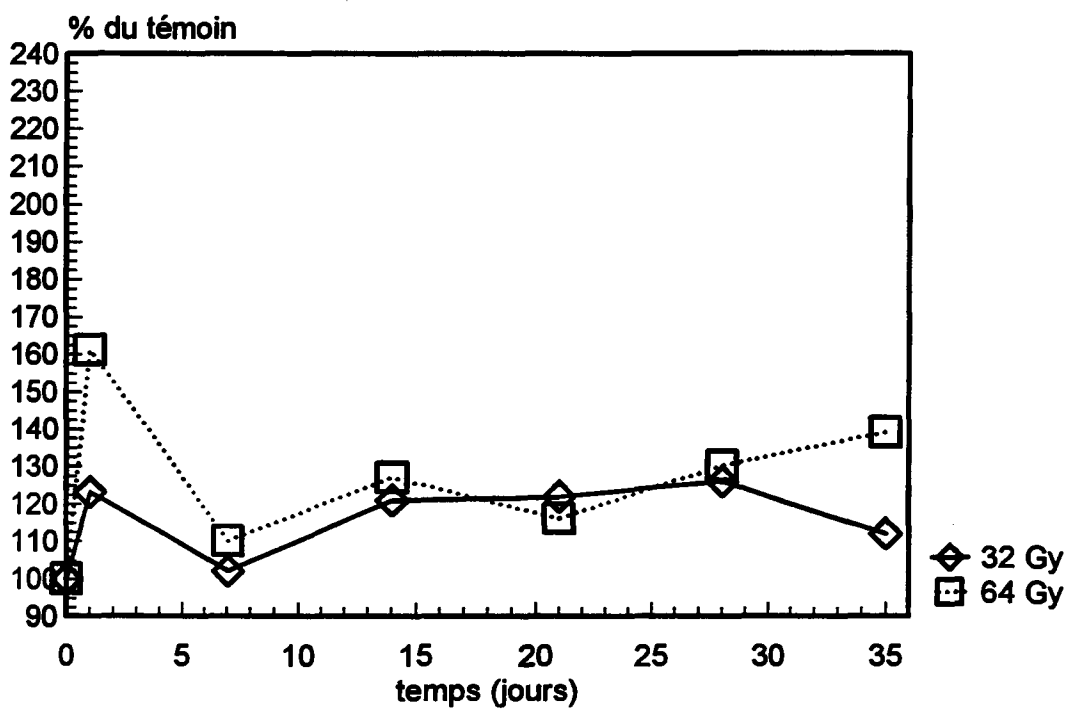
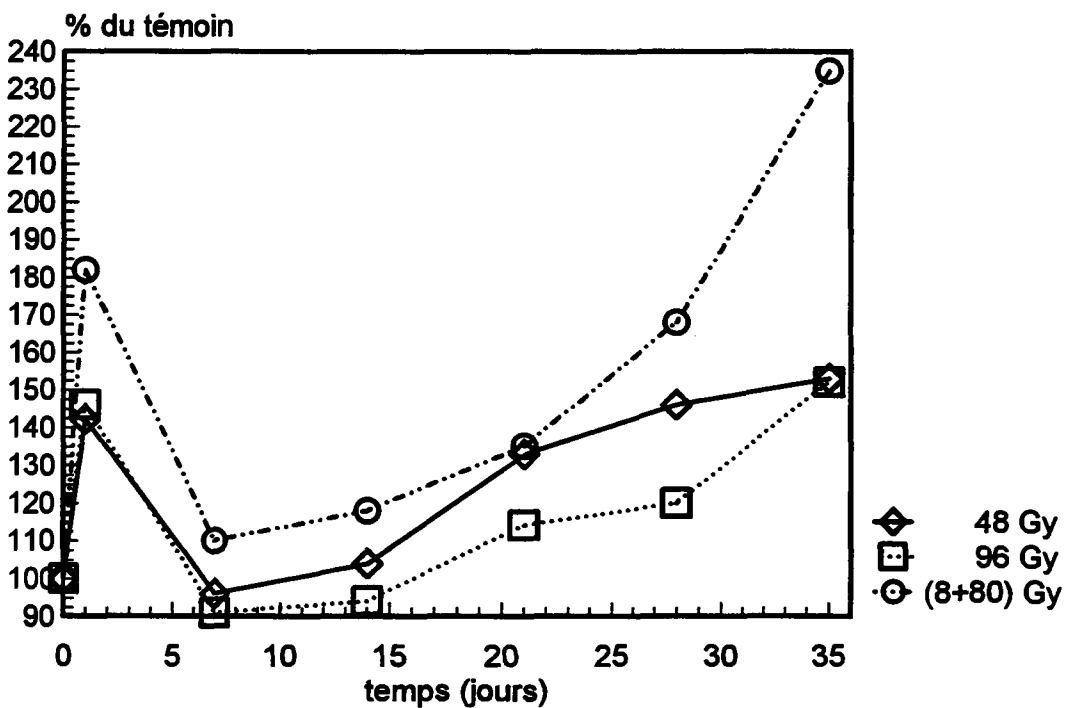


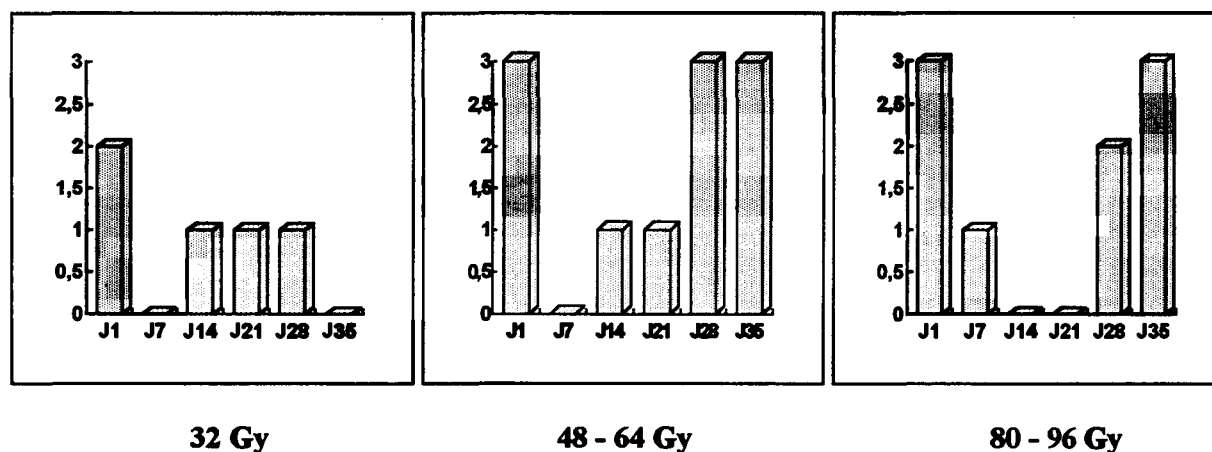
Figure 5: évolution de la moyenne des chocs par zone irradiée, canaux 50 - 256



différentes expérimentations. On retrouve la même allure des phénomènes avec une augmentation précoce (J1) et tardive (J21-J35).

Le diagramme de la *figure 6* regroupe, pour 3 gammes de doses, le nombre d'expériences (3 au total) pour lesquelles l'augmentation de la valeur du plateau est significative par rapport au témoin.

Figure 6: relevé des augmentations significatives de la valeur du plateau en fonction des différentes doses et du délai après irradiation.



On voit que l'évolution de l'augmentation du débit sanguin cutané, quantifié par la valeur du plateau, est assez semblable dans les trois groupes de doses, avec des pourcentages de réponses variables.

La courbe tracée à la *figure 7* représente pour 5 doses la droite de corrélation entre la dose et l'augmentation du débit sanguin cutané:

$$A_{\max} = 105,7 + 0,78 D_{\text{Gy}} \quad \text{avec } r = 0,50 \text{ (n = 48; sign. à 5\%)}$$

Pour les 3 doses mixtes $[0,1 \gamma + 1 \beta]$ la courbe représentant l'augmentation de la réponse (ΔA_{\max}) calculée sur 3 valeurs, est de la forme $\Delta A_{\max} = 1,18 - 0,01 D_{\text{Gy}}$

Le fait d'ajouter à la dose β une dose γ égale à 10% de la dose β entraîne une augmentation de la réponse (débit sanguin cutané) qui décroît avec la dose:

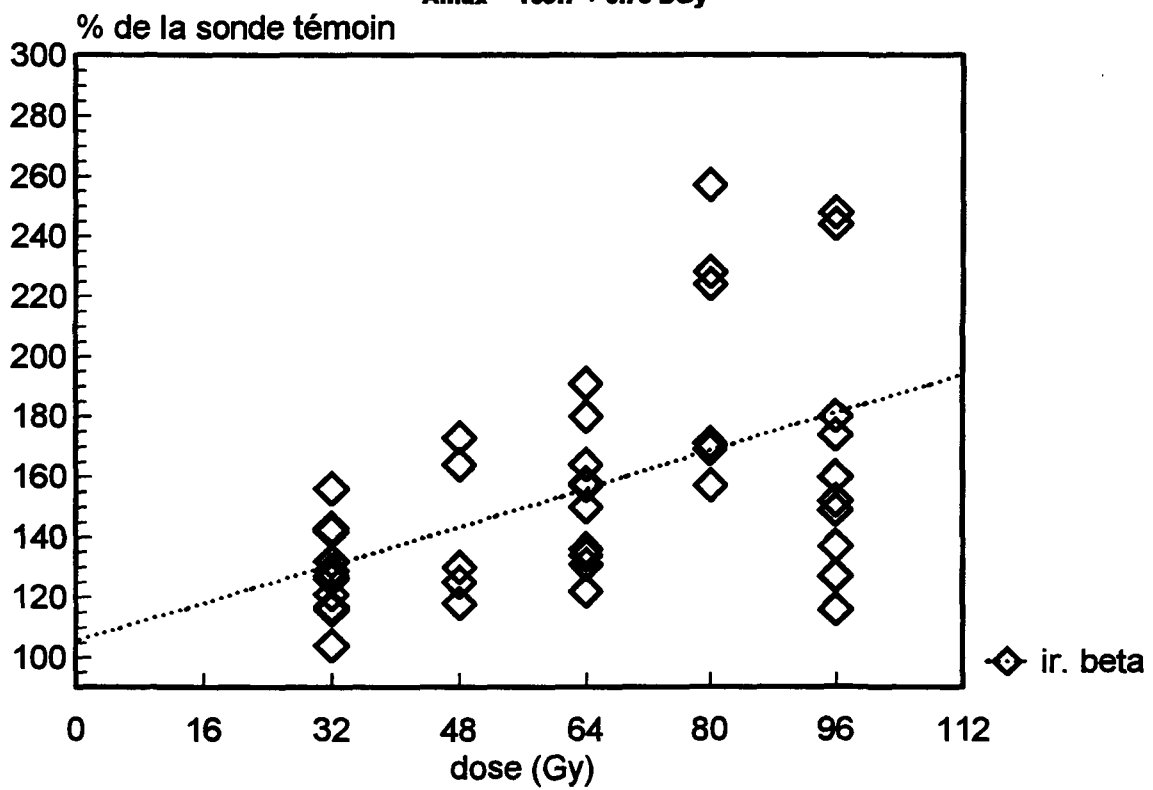
- 3,2 Gy γ + 32 Gy β = + 80 %
- 6,4 Gy γ + 64 Gy β = + 62 %
- 8 Gy γ + 80 Gy β = + 25 %

V-B-2 Evolution du coefficient b

Le coefficient b donne une indication sur le temps de mise en équilibre de la circulation superficielle (le temps d'obtention du plateau); sa valeur est directement liée au débit sanguin cutané et notamment aux processus dynamiques de vasodilatation et vasoconstriction, et d'exclusion éventuelle du réseau capillaire.

Si l'on étudie la régression entre la dose et la valeur du coefficient b au premier jour (J+1), on obtient:

Figure 7. Droite de corrélation entre la dose et l'augmentation du débit sanguin
 $A_{max} = 105.7 + 0.78 \text{ DGy}$



$b = 0,27 + 0,0033 D$ (Gy) et $r = 0,69$ significatif à $> 1.10^{-3}$ et significatif à $> 1\%$ à J+35 ($r = 0,59$).

Pour les jours intermédiaires le coefficient de régression n'est pas significatif. Pour les doses mixtes $[0,1 \gamma + 1 \beta]$ on observe, comme pour la valeur A du plateau, une augmentation de la valeur de b, correspondant à une valeur de D telle que:

$\frac{DD}{D} = 80\%$ pour $[3,2 + 32 \text{ Gy}]$; 90% pour $[6,4 + 64 \text{ Gy}]$ et 22% pour $[8 + 80 \text{ Gy}]$.

V-B-3 Analyse en composantes principales (tableau 6)

Nous avons réalisé une analyse sur 72 individus caractérisés par 5 caractères: 1) dose (Gy); 2) aspect clinique de la lésion en données semi-quantitatives; 3) sa température mesurée par téléthermographie; 4) la valeur du plateau; 5) la valeur du coefficient b.

Tableau 6: matrice de corrélation de l'analyse en composantes principales.

dose (Gy)	1				
clinique	0.58	1			
température	0.36	0.55	1		
plateau (A)	0.51	0.67	0.57	1	
pente (b)	- 0.25	- 0.22	- 0.28	- 0.37	1
	dose (Gy)	clinique	température	plateau (A)	pente (b)

La valeur du plateau (A) semble plus significative vis à vis de la dose et de la clinique que celle de la pente (b).

Une autre analyse a concerné les valeurs de A et b, à J + 1, pour les 3 groupes d'animaux, selon la bande d'énergie choisie pour exploiter les spectres enregistrés: les corrélations dose/A et dose/b sont meilleures pour les basses énergies (canal 50 à 150) que pour les hautes (canal 150 à 250), où il est vrai que le nombre de coups est beaucoup plus faible; elles sont également meilleures pour les doses B que pour les doses γ . Les corrélations ne sont pas significatives pour J + 7, J + 14 et J + 21.

V-B-4 Analyse de variance

Cette analyse a concerné, pour les valeurs A du plateau, les 3 groupes d'animaux exposés aux doses 32, 48, 64, 80 et 96 Gy. Nous avons pu noter que :

- il n'y a pas de facteur "découpage des spectres" entre 50 -150 ou 150 - 250 canaux,
 - il n'y a pas de facteur "porc" dans les différents groupes,
 - le facteur "dose" n'est significatif que pour J + 1, J + 28 et J + 35,
 - le facteur "jour" est significatif pour toutes les doses d'exposition;
- néanmoins la différence n'est pas significative entre les sujets exposés à 80 et 96 Gy : tout se passe comme si on atteignait une limite dans l'augmentation de la circulation cutanée consécutive à l'irradiation.

V-C CAS D'UNE BRULURE CUTANEE

Une simulation des lésions radiques superficielles a été réalisée en appliquant une brûlure modérée

sur la peau des porcs en expérience.

V-C-1 Méthodologie

Une application simultanée de trois pièces cylindriques en bronze de 5 cm de diamètre, maintenues préalablement dans deux bains thermostatés à 55 et 60 degrés C°, a été effectuée sur 2 porcs, aux mêmes localisations que les irradiations β . Le temps de contact était de 1 minute. On observe après l'application à 55° un érythème fugace; à 60° l'érythème perdure quelques jours et plus tardivement apparaît une épithéliite sèche qui desquame dans les jours qui suivent.

Les animaux ont reçu une injection endoveineuse de ^{32}P , dans les conditions décrites précédemment, 1 heure, 24 heures et 48 heures après l'atteinte cutanée. Les mesures ont été faites sur les deux zones brûlées et sur une zone témoin.

V-C-2 Résultats

Les résultats ne concernent que l'évolution du rapport A_{max} à 55° ou 60° sur A_{max} témoin:

- à 55° la différence n'est significative avec le témoin à aucun des 3 temps de mesure; par contre à 60° l'augmentation de la valeur A_{max} du plateau est de l'ordre de 40 % (39 ± 18) par rapport au témoin, à 1 heure, 24 heures et 48 heures.
- les réponses des 2 porcs vis à vis des 2 températures (55° et 60°) sont corrélées entre-elles à 24 et 48 heures mais pas à 1 heure.

Ainsi, bien qu'il semble exister, après une brûlure modérée, un seuil de réponse entre 55° et 60°, les modifications de la circulation cutanée évoluent de la même façon après 24 et 48 heures.

V-D CONCLUSION

Quand on compare l'évolution clinique (*figure 2*) et l'évolution du taux de comptage - ou A_{max} - (*figure 6*), on note évidemment une certaine analogie entre les courbes. Néanmoins pendant la phase de latence (J7 - J21) on observe que l'appréciation du paramètre circulatoire est plus sensible. Pour les doses de 80 et 96 Gy il y a une inversion entre la réaction clinique, plus intense pour 96 Gy, et la mesure circulatoire, plus élevée pour 80 Gy.

V-E ESSAIS DE SIMULATION *IN VITRO* DES SPECTRES OBTENUS *IN VIVO*

Comme nous l'avons vu précédemment, suivant que l'on utilise la méthode dE/dx , évaluant l'épaisseur de l'écran constitué par la peau, ou que l'on étudie la répartition des pourcentages d'activité dans les différentes bandes du spectre, ce qui peut être considéré comme une expression du canal moyen, les résultats obtenus, respectivement 0,8 et 3-4 mm d'épaisseur sont tout à fait cohérents avec les données anatomiques et physiologiques concernant la peau.

Cependant, l'importance de la dégradation du spectre pur du radionucléide dans l'air et sa forme générale ne sont pas réellement pris en compte. Dans une approche plus complexe, utilisant des fantômes simples et complexes, composés de couches d'équivalents tissu, avec des couches actives placées à des distances croissantes du détecteur, nous avons cherché à caractériser les contributions respectives des différentes couches vasculaires dans la construction du spectre final.

V-E-1 Principe de la méthode. Dans une première phase, cette étude nécessitait de constituer une bibliothèque de spectres issus de sources actives uniques, situées à des profondeurs croissantes d'équivalents tissus (mylar et/ou cronaflex) exprimées en mg/cm^2 .

Dans une seconde phase, l'analyse du spectre d'un fantôme complexe d'équivalent peau (mylar, cronaflex, Plexiglas et aluminium) comparé au spectre de peau normale obtenu après injection endoveineuse de ^{32}P , est réalisée par régression linéaire multiple progressive. Ce traitement mathématique consiste à exprimer une variable observée Y (variable indépendante ou à expliquer) en fonction d'un ensemble d'autres variables observées x_1, x_2, \dots (variables indépendantes ou explicatives). Toutes les variables, (à expliquer et explicatives) doivent être quantitatives. Il s'agit alors de trouver une relation linéaire, si elle existe, liant la variable Y représentant ici le spectre de ^{32}P enregistré *in vivo*, aux variables x_i représentant ici les spectres de référence avec des épaisseurs d'écran connues: $Y = a_1x_1 + a_2x_2 + \dots + \text{constante}$

Si le modèle explicatif trouvé est de bonne qualité, c'est à dire avec un R^2 élevé, la régression peut alors avoir un pouvoir prédictif. Il s'agit alors d'estimer la valeur de Y pour des individus dont on connaît uniquement les valeurs de x_i .

V-E-2 Conditions de validité

Il faut avant tout admettre l'hypothèse de l'existence d'une relation linéaire entre Y et x_i , ce qui dans notre modèle est cohérent, et rendu possible par l'utilisation de l'équation de Kurie - Fermi pour traiter les spectres observés. Par ailleurs, les variables explicatives ne doivent pas être trop corrélées (multicolinéarité). Lorsque la régression est globalement significative à $p < 0.05$ avec un test de Fisher à $F > 1$ comme critère d'arrêt, les variables statistiquement significatives à $p < 0.05$ sont significatives à titre individuel. Par ailleurs, le R^2 ajusté permet alors d'expliquer la variance de Y par la régression.

V-E-3 Construction des modèles

Nous avons réalisé une bibliothèque de spectres obtenus dans l'air à partir de sources actives de ^{32}P masquées par des écrans de mylar d'épaisseurs croissantes (*Tableau 7*) en prétemps et/ou en précomptes, en fonction de l'activité des sources utilisées pour les différents écrans, puis normalisées à un nombre de coups identiques correspondant au nombre total de chocs du spectre standard obtenu après injection endoveineuse de ^{32}P chez le porc, soit 55 000 coups environ.

Tableau 7: épaisseur des écrans de mylar et E_{max} théorique.

épaisseur d'écran (mg/cm ²)	E_{max} théorique (keV)
0	1655
25,8	1607
51,6	1559
77,4	1512
103,2	1464
129	1416
154,8	1368
180,6	1321
206,4	1273
232,2	1225
258	1178
309,6	1082
361,2	987
412,8	891
464,4	796
516	700

Ces spectres étaient ensuite traités par le programme SPEBETA (voir protocole en V.A.3) afin d'obtenir les droites de Kurie. La moyenne du bruit de fond des 15 derniers canaux situés au-delà du E_{max} apparent de chaque spectre était ensuite soustraite du spectre, afin d'obtenir un spectre net correspondant à chaque épaisseur d'écran.

V-E-4 Résultats

V-E-4 a) étalonnage. Sur chacun de ces 16 spectres, une régression linéaire était alors ajustée entre $E_{max}/2$ et E_{max} ce qui donnait un E_{max} calculé.

Pour les 16 spectres, le coefficient de corrélation a été : $-0.99 < r < -0.96$.

Les droites d'étalonnage théorique étaient:

$$Y = 1655 - 1.85 \times (r = -1) \quad \text{et} \quad Y = 891.15 - 0.538 \times (r = -0.999, E_{max} = 1655 \text{ keV})$$

Les droites d'étalonnage mesurées étaient:

$$Y = 1638 - 1.78 \times (r = -0.999) \quad \text{et} \quad Y = 911.69 - 0.556 \times (r = -0.999, E_{max} = 1640 \text{ keV})$$

Aux incertitudes près, liées à la détermination du E_{max} apparent, ces résultats ont été jugés suffisamment satisfaisant pour nous autoriser à poursuivre l'analyse.

V-E-4 b) mesures *in vivo*. Sur un spectre moyen de peau de porc (28ms4), reconstruit à partir de 28 spectres obtenus sous la sonde de référence (n°4) de la série IV d'animaux suivis entre J+1 et J+35 après irradiation, la moyenne des E_{max} était: $m = 1542 \pm 14 \text{ keV}$ correspondant à une épaisseur massique de $61 \pm 7 \text{ mg/cm}^2$, soit environ $610 \mu\text{m}$.

Sur une série de 3 porcs non irradiés, auxquels du ^{32}P avait été injecté, la moyenne des E_{max} calculés sur les 12 sondes était: $m = 1542 \pm 18 \text{ keV}$ correspondant à une épaisseur massique de $61 \pm 9 \text{ mg/cm}^2$, soit environ $610 \mu\text{m}$. Pour les caractéristiques des droites de Kurie des différents spectres, les variations minimum - maximum entre les 4 sondes, étaient respectivement:

variation de la pente $< 8\%$

variation de l'origine $< 8\%$

variation du E_{max} $< 4\%$

montrant ainsi une homogénéité relative satisfaisante par zone par animal, quelle que soit la zone de référence.

Sur les mêmes animaux suivis pendant 35 jours après irradiation, la moyenne des E_{max} calculés sur la sonde n°4 de référence était: $m = 1540 \pm 13 \text{ keV}$ pour $n = 18$, correspondant à une épaisseur massique de $62 \pm 7 \text{ mg/cm}^2$, soit environ $620 \mu\text{m}$. Pour les caractéristiques des droites de Kurie des différents spectres, les variations minimum - maximum entre les différents jours, étaient:

variation de la pente $< 36\%$

variation de l'origine $< 38\%$

variation du E_{max} $< 3\%$

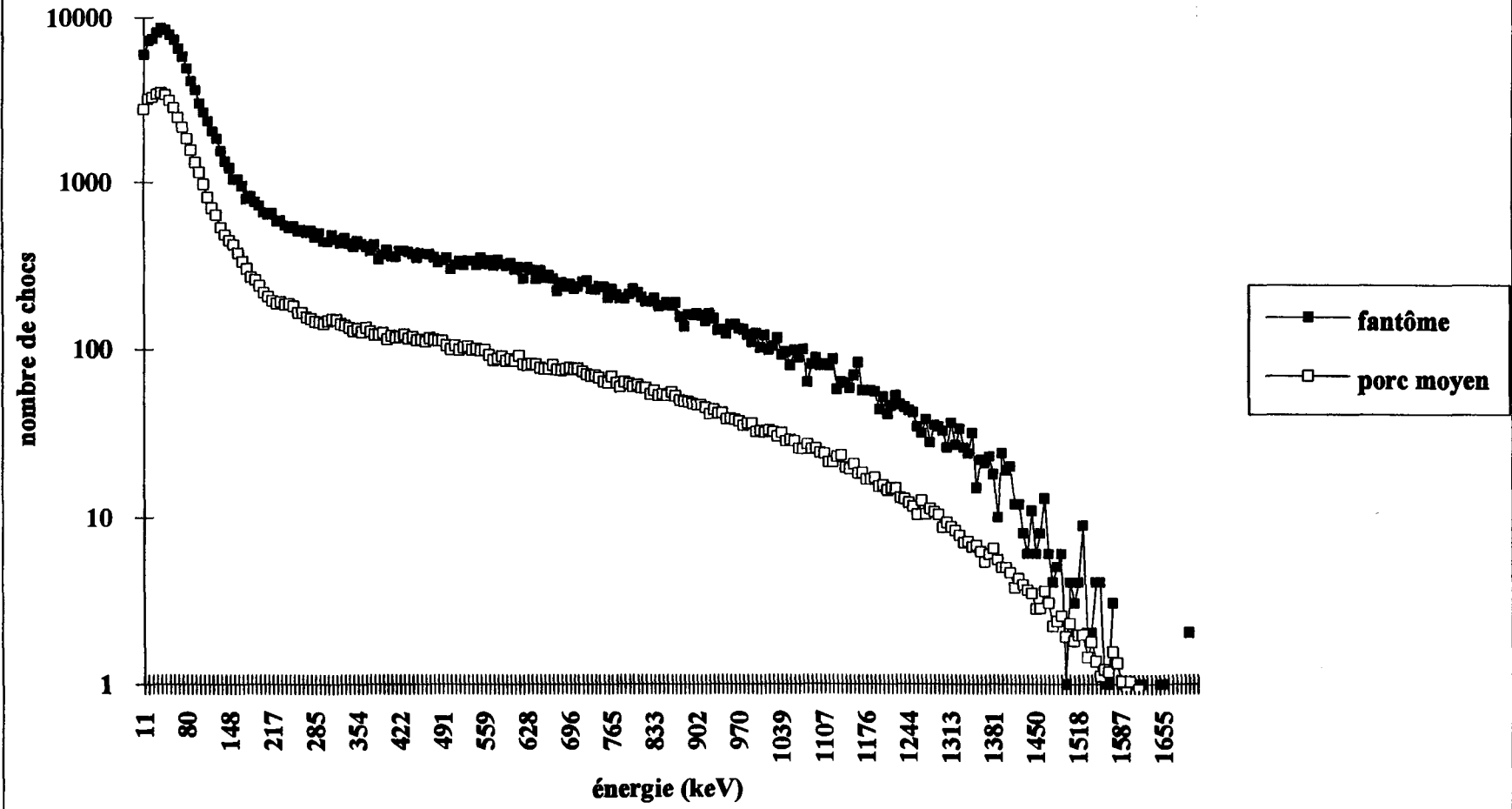
montrant ainsi une grande hétérogénéité relative. Cette disparité interdisait de comparer une zone dans le temps et imposait donc d'avoir une zone de référence par jour propre à chaque animal.

V-E-4 c) application aux brûlures thermiques

Sur 3 animaux dont 2 zones de peau ont été chauffées à 55° et 60°C pendant 1 minute, les variations minimum - maximum rapportées en % de la sonde de référence, des caractéristiques des droites de Kurie des différents spectres, étaient:

N°1 - 55°C :	variation de la pente +27%	N°1 - 60°C :	variation de la pente +43%
	variation de l'origine +27%		variation de l'origine +45%
	variation du E_{max} - 1%		variation du E_{max} + 1%

Figure 8: spectres bruts



N°2 - 55°C:	variation de la pente + 30%	N°2 - 60°C:	variation de la pente + 67%
	variation de l'origine + 30%		variation de l'origine + 66%
	variation du Emax 0%		variation du Emax - 1%
N°3 - 55°C:	variation de la pente + 35%	N°3 - 60°C:	variation de la pente + 40%
	variation de l'origine + 31%		variation de l'origine + 33%
	variation du Emax - 3%		variation du Emax - 3%

faisant apparaître une vasodilatation plus importante dans la zone chauffée à 60°C.

V-E-5 Régression multilinéaire

V-E-5 a) spectres simples. Dans cette seconde étape, les droites de Kurie réalisées à partir des spectres d'écrans simples ont été installées comme variables explicatives dans un programme de régression multilinéaire (PCSM, Deltasoft), afin de tester des spectres simples puis complexes.

Dans tous les tests réalisés avec chacun des 16 spectres simples de la bibliothèque, comme variable observée, celui-ci était reconnu comme variable unique.

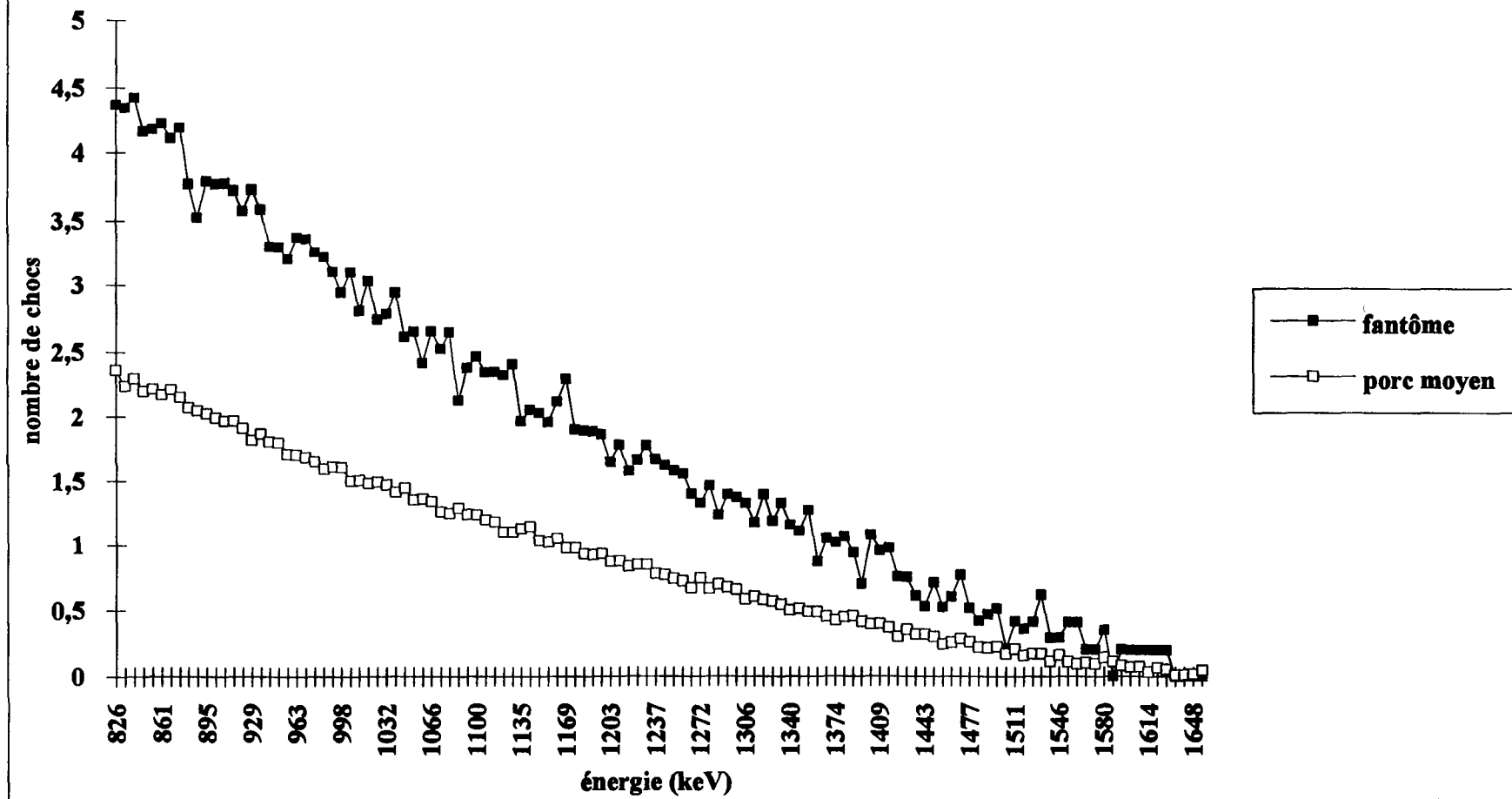
V-E-5 b) spectre complexe de fantôme. Par des essais successifs, à partir d'écrans de cronaflex (0,2 mm = 24 mg/cm²), Plexiglas (1mm = 145 mg/cm² et 2mm = 344 mg/cm²) et aluminium (1,1 mm = 300 mg/cm² et 1,85 mm = 500 mg/cm²), nous avons construit un fantôme de peau qui prenait en compte les données anatomiques concernant les profondeurs des différentes couches vasculaires du tissu cutané (*Tableau 8*).

Tableau 8: constitution du "fantôme": nature des écrans et disposition des sources actives dans la construction du spectre "fantôme".

éléments S = source E = écran	épaisseur (mm)	distance cumulée (mm)	épaisseur massique (mg/cm ²)	épaisseur totale d'écran (mg/cm ²)	activité et n° des sources (μCi)
E1	0,4		48		
S1	0,2	0,4	24	48	B (0,054)
E2	1,4		193		
S2	0,2	2	24	265	A (0,054)
E3	1		145		
S3	0,2	3,2	24	434	C (0,054)
E4	2		344		
S4	0,2	5,6	24	802	D (0,54)
E5	3,3		590		
S5	0,2	9,1	24	1416	E (2,3)
E6	1,85		500		
S6	0,6	11,15	72	1940	F+G+H (7,56)

Nous avons ainsi obtenu un spectre brut de 147 000 chocs, proche du spectre moyen de peau de porc obtenu après injection endoveineuse de ³²P (*figure 8*).

Figure 9: droite de Kurie



Le traitement par SPEBETA nous donnait la droite de Kurie entre 826 et 1655 keV (*figure 9*). L'analyse multilinéaire du spectre "fantôme" contre la bibliothèque de droites de Kurie obtenues à partir des spectres d'écrans permettait d'obtenir:

- 1) les variables explicatives retenues ($p < 0.05$) qui contribuent à réaliser une régression globalement significative à $p < 0.05$;
- 2) le coefficient de détermination $R^2 = 0,99182$ qui montre que 99,18% de la variance de la mesure sont expliqués par cette régression;
- 3) la constante et les coefficients de régression de toutes les variables retenues et leurs rangs (test F) qui contribuent à construire le spectre.

Ces résultats sont représentés dans le *tableau 9*. Il apparaît que la source S1 du fantôme, située sous 48 mg/cm², est localisée entre les écrans 25,8 et 51,6 mg/cm² pris comme variables significatives. Les sources S2 et S3 du fantôme, situées respectivement sous 265 et 434 mg/cm² sont reconnues comme un niveau unique à 361 mg/cm². Ces 3 écrans permettent d'expliquer 99% de la variance. Les sources S4, S5 et S6 ne sont pas prises en compte entre $E_{max}/2$ et E_{max} .

Ce tableau 9, associé à une feuille de calcul (Excel, Microsoft) permet de reconstruire le spectre "fantôme". En effet, chaque coefficient de régression des variables retenues est attribué à toute la droite de Kurie correspondante, et le spectre total est reconstruit en additionnant la constante et les 7 spectres simples pondérés par leurs coefficients de régression (*figure 10*).

Par ailleurs, le tableau 9 fait apparaître que le nombre de chocs correspondant entre 826 et 1655 keV, soit ici 220 chocs, ainsi que les répartitions en % par bandes d'énergie, du spectre mesuré et du spectre reconstruit sont identiques.

V-E-5 c) spectre moyen de peau. Le spectre moyen de peau de porc (28ms4) traité de la même manière (*tableau 10 et figure 11*) fait apparaître 2 niveaux significatifs d'épaisseur massique situés respectivement à 25 - 77 mg/cm² (250 à 770 μ m) et 258 - 412 mg/cm² (2,5 à 4,1 mm), expliquant ainsi 99,84% de la variance. Par ailleurs, sur un spectre brut initial de 55 000 chocs, qui représente 438 chocs après traitement par le programme SPEBETA, le *tableau 10* montre que le nombre de chocs correspondant à la bande d'énergie $E_{max}/2 - E_{max}$ n'est plus que de 111 soit ~ 25%. Après reconstruction, les répartitions par bande d'énergie des 111 chocs du spectre sont parfaitement identiques.

V-E-5 d) vérifications. Afin de tester la méthode d'analyse, nous avons, dans un premier temps, extrait de la bibliothèque de spectres simples, le spectre correspondant à 361 mg/cm². Le spectre brut initial a été multiplié par 10, traité par SPEBETA, puis la partie comprise entre 826 et 1655 keV a été installée dans la bibliothèque de spectres d'écrans simples. L'analyse multilinéaire du spectre du fantôme a été recommencée sans le niveau 361 mg/cm² mais avec un niveau "3610 mg/cm²". L'analyse faisait apparaître l'écran 412 mg/cm² à la place du 361 mg/cm² absent et renforce la discrimination dans les variables non significatives.

Dans un deuxième temps, nous avons repris le spectre moyen de peau m28s4 que nous avons également multiplié par 10 (spectre m28s4x10) et traité comme le spectre initial sur la bibliothèque complète (*tableaux 11 et 12; figures 12 et 13*). Pour un nombre de chocs de 307, augmenté d'un facteur voisin de racine carrée de 10, les variables significatives retenues sont globalement les mêmes que pour le spectre initial, avec cependant un rang (test F) modifié. Par contre, le coefficient R^2 est identique. Nous avons ensuite évalué les contributions des variables non significatives, mais néanmoins retenues pour la reconstruction du spectre: dans ce cas, elles représentent 0,16% pour un nombre de chocs de 24 (*tableau 13 et figure 14*).

Tableau: 9

Régression multilinéaire des spectres de Kurie entre Emax/2 et Emax du P32 et calcul du spectre SP				
les variables retenues (p < 0,05) contribuent à réaliser une régression globalement significative à p < 0,05				
les coefficients de régression des variables retenues (test F) contribuent à reconstruire le spectre SP				
épaisseur massique (mg/cm ²)	coefficient de régression	seuil (p < 0,05)	rang (test F)	Mesure fantôme
				220
25.8	0,2079	0,00200	1	Nb choc 220
51.6	0,1765	0,01200	3	
77.4	-0,0598		7	
103.2	0			Energie (keV) SP (%) Mesure (%)
129	0			
154.8	-0,0364		6	826-888 18,8 18,8
180.6	0			896-998 25,0 25,0
206.4	0			1005-1107 19,3 19,2
232.2	0			1114-1217 14,5 14,6
258	0			1224-1326 10,7 10,5
309.6	0			1333-1436 6,8 7,1
361.2	0,1438	0,00900	2	1443-1546 3,6 3,5
412.8	-0,1018		4	1553-1651 1,4 1,3
464.4	-0,0181		5	
516	0			% tot 100,0 100,0
const	0,0979			
R ² de régression		0,99182	99,18% de la variance de la mesure sont expliqués par la régression	

Figure 10: Spectre de Kurie: fantôme

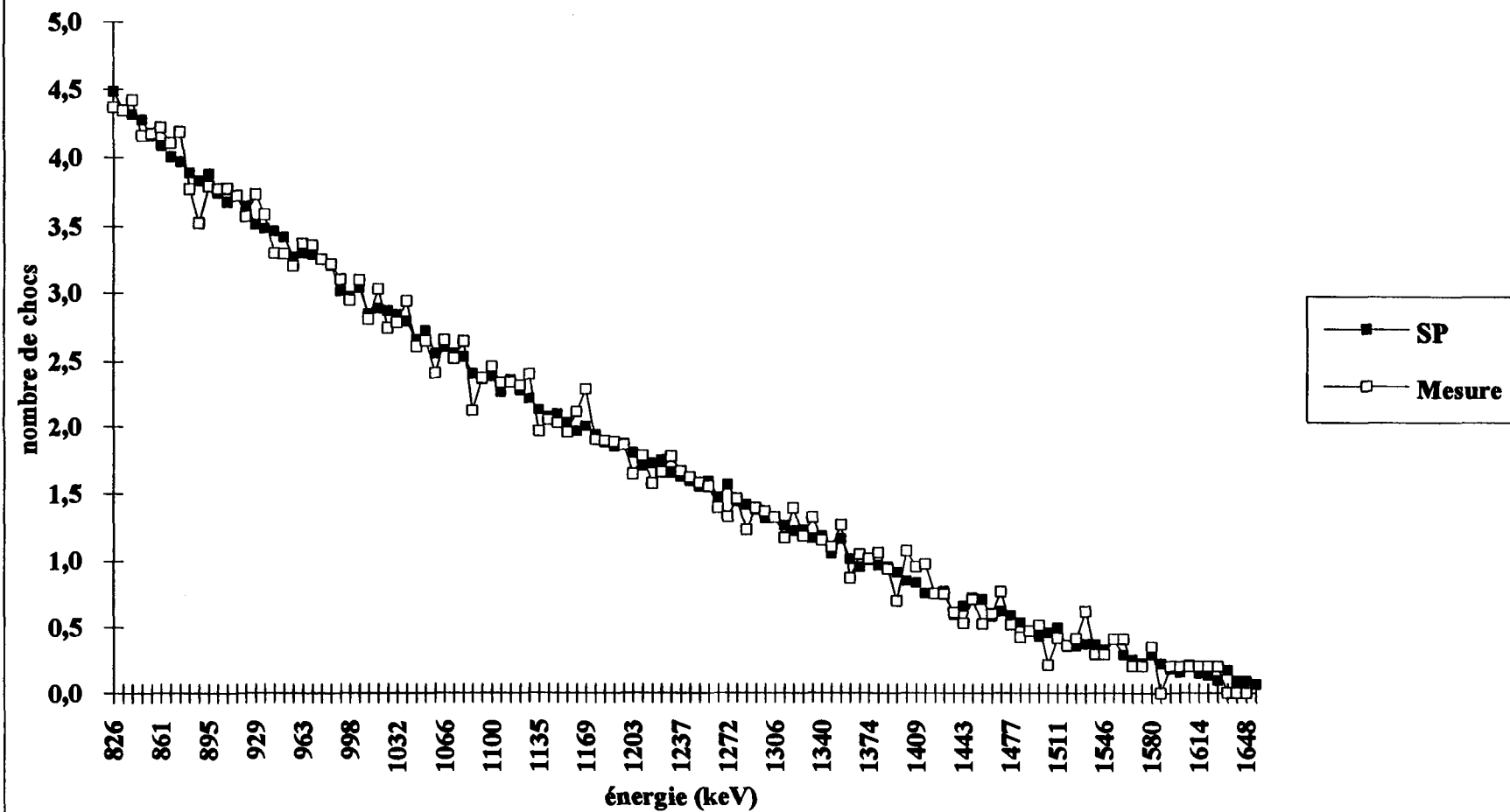


Tableau: 10

Régression multilinéaire des spectres de Kurie entre Emax/2 et Emax du P32 et calcul du spectre SP
 les variables retenues ($p < 0,05$) contribuent à réaliser une régression globalement significative à $p < 0,05$
 les coefficients de régression des variables retenues (test F) contribuent à reconstruire le spectre SP

épaisseur massique (mg/cm ²)	coefficient de régression	seuil ($p < 0,05$)	rang (test F)			
25.8	0,0524	0,00100	2			
51.6	0,0333	0,05000	5			
77.4	0,0676	0,00001	1			
103.2	0,0288		7			
129	0					
154.8	0					
180.6	-0,0279		8			
206.4	0					
232.2	-0,0204		9			
258	0,0306	0,05000	6			
309.6	0					
361.2	0,0466	0,00100	3			
412.8	-0,0324	0,04100	4			
464.4	0					
516	0					
constante	0,0573					
coéf. de détermination =				0,99840	99,84% de la variance de la mesure sont expliqués par la régression	

Spectre SP		Mesure m28s4
Nb chocs	111	111
Energie (keV)	SP (%)	Mesure (%)
826-888	19,7	19,8
895-998	25,9	25,8
1005-1107	19,7	19,7
1114-1217	14,5	14,5
1224-1326	10,1	10,0
1333-1436	6,1	6,2
1443-1546	3,0	3,1
1553-1655	1,1	1,0
% total	100,0	100,0

Figure 11: Spectre de Kurie: porc moyen

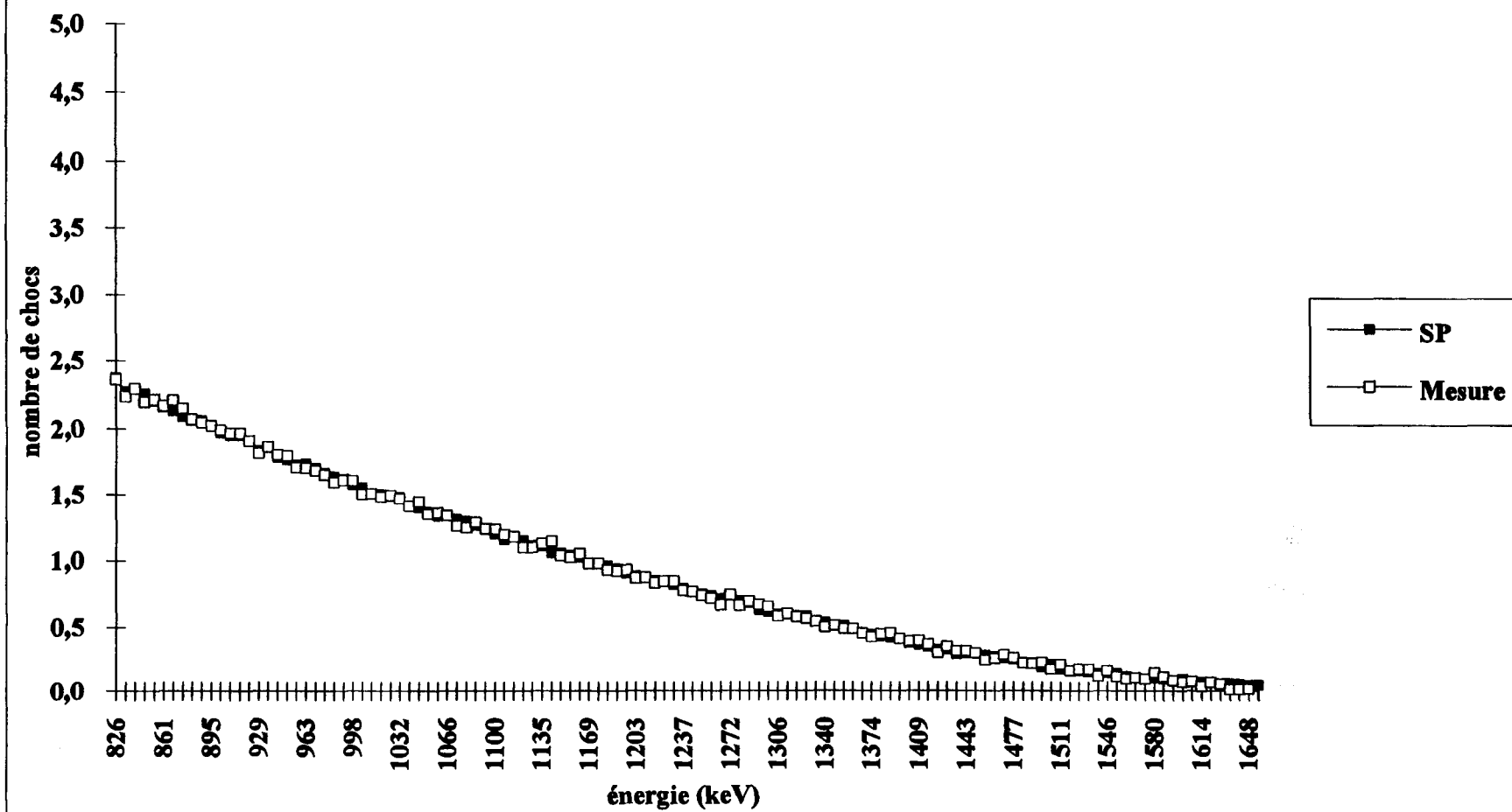


Tableau: 11

Régression multilinéaire des spectres de Kurie entre Emax/2 et Emax du P32 et calcul du spectre SP
 les variables retenues ($p < 0,05$) contribuent à réaliser une régression globalement significative à $p < 0,05$
 les coefficients de régression des variables retenues (test F) contribuent à reconstruire le spectre SP

épaisseur massique (mg/cm ²)	coefficient de régression	seuil ($p < 0,05$)	rang (test F)	Mesure m28s4x10		
				Nb chocs	Spectre SP	
25.8	0,1456	0,00200	3		307	307
51.6	0,0939		6			
77.4	0,2	0,00001	2	Energie	SP	Mesure
103.2	0,1124	0,02500	4	(keV)	(%)	(%)
129	-0,042		8			
154.8	0			826-888	21,4	21,4
180.6	0			895-998	27,6	27,6
206.4	0			1005-1107	20,5	20,5
232.2	0			1114-1217	14,5	14,5
258	0			1224-1326	9,5	9,5
309.6	0			1333-1436	5,0	5,1
361.2	0,1543	0,00001	1	1443-1546	1,7	1,8
412.8	-0,1013	0,03300	5	1553-1655	-0,2	-0,4
464.4	0					
516	-0,0652		7	% total	100,0	100,0
constante	-0,1193					
coefficient de détermination R ² =		0,99840	99,84% de la variance de la mesure sont expliqués par la régression			

Figure 12: Spectre de Kurie: porc moyen multiplié par 10

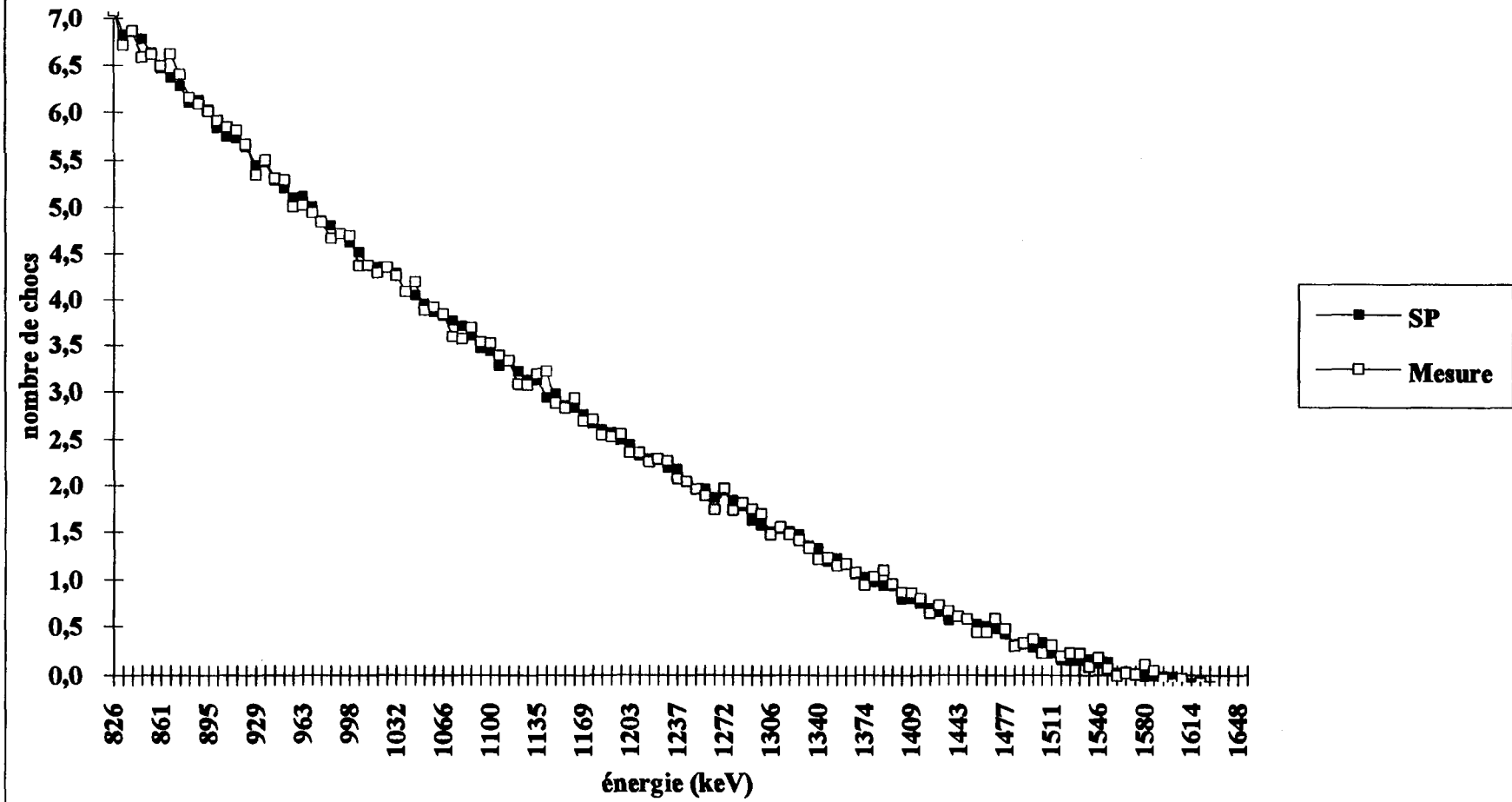


Figure 13: Spectre de Kurie: porc moyen multiplié par 10, variables significatives à $p < 0.05$

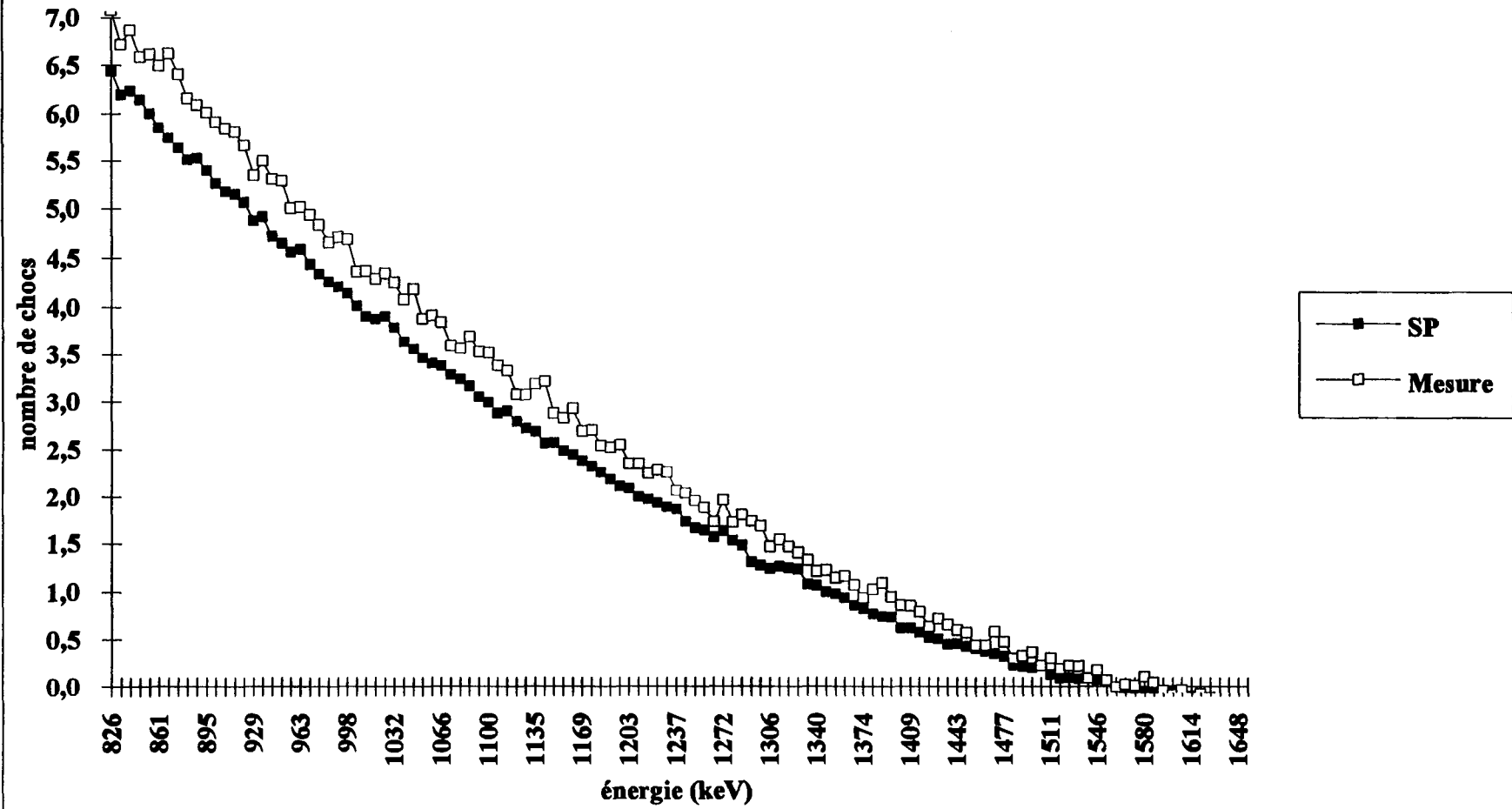


Tableau: 13

Régression multilinéaire des spectres de Kurie entre Emax/2 et Emax du P32 et calcul du spectre SP
 les variables retenues ($p < 0,05$) contribuent à réaliser une régression globalement significative à $p < 0,05$
 les coefficients de régression des variables retenues (test F) contribuent à reconstruire le spectre SP

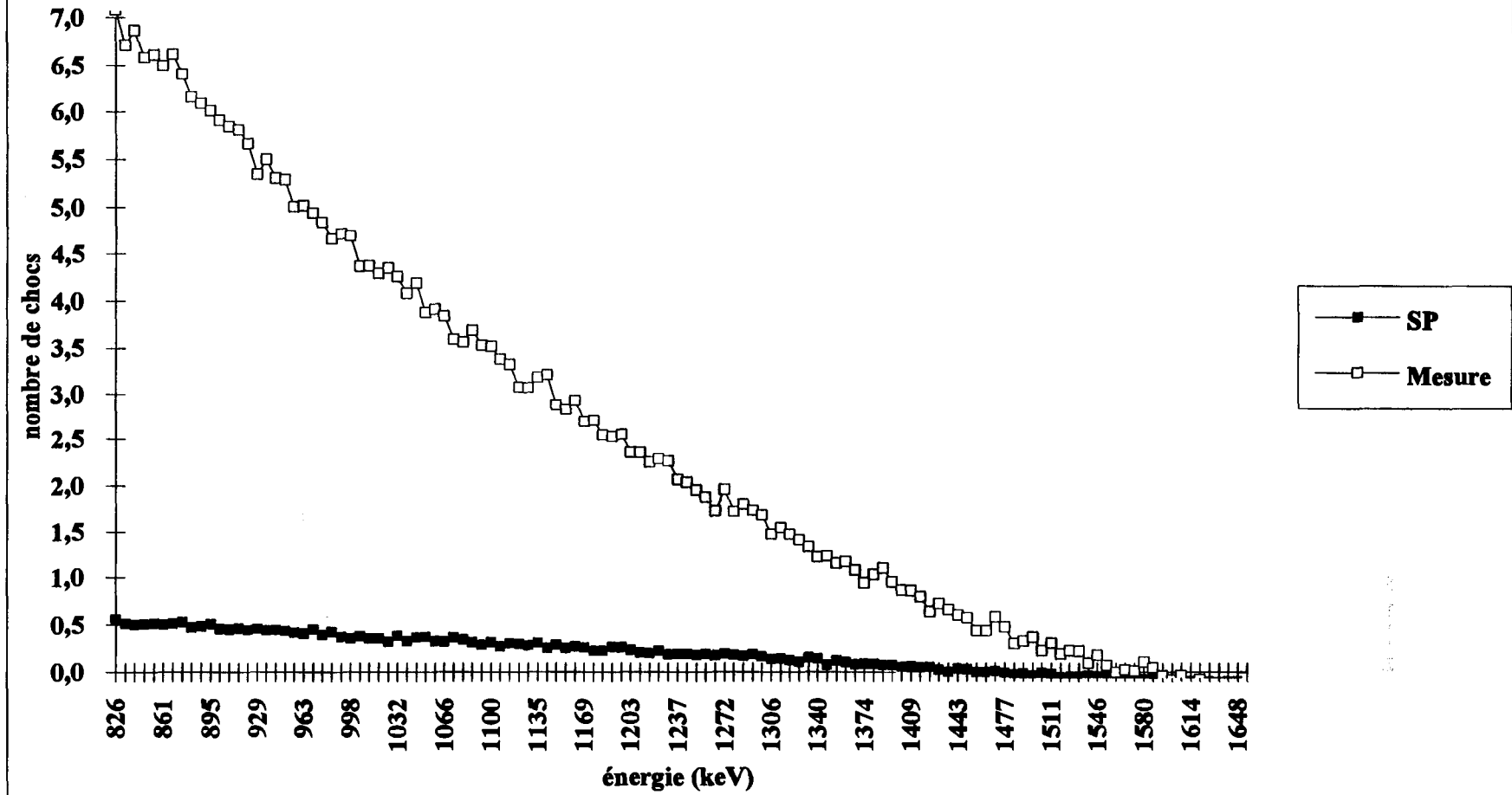
épaisseur massique (mg/cm ²)	coefficient de régression	seuil ($p < 0,05$)	rang (test F)
25.8	0		
51.6	0,0939		
77.4	0		
103.2	0		
129	-0,042		
154.8	0		
180.6	0		
206.4	0		
232.2	0		
258	0		
309.6	0		
361.2	0		
412.8	0		
464.4	0		
516	-0,0652		
constante	-0,1193		

Spectre SP		Mesure m28s4x10
Nb chocs	24	307
Energie (keV)	SP (%)	Mesure (%)
826-888	21,6	21,4
895-998	29,3	27,6
1005-1107	22,9	20,5
1114-1217	17,4	14,5
1224-1326	11,6	9,5
1333-1436	5,0	5,1
1443-1546	-1,5	1,8
1553-1655	-6,3	-0,4
% total	100,0	100,0

coef. de détermination R ² =	0,00160	0,16% de la variance de la mesure sont expliqués par la régression
---	---------	--

WPCOM.C
25

Figure 14: Spectre de Kurie: porc moyen multiplié par 10, variables non significatives



Dans les deux cas, il apparaît que les différentes épaisseurs massiques retenues comme variables explicatives sont les mêmes. Par contre, lorsque le taux de comptage augmente la statistique est améliorée et permet d'exclure des variables explicatives mineures. Par ailleurs, le fait de supprimer un écran permet un renforcement de la discrimination en supprimant également des variables mineures.

V-E-5 e) limites de la méthode. Tous les spectres des différentes séries d'animaux en expérience ont été traités par cette méthode d'analyse. Il est apparu que pour des spectres bruts d'environ 55 000 chocs, correspondant à une injection de 3,7 MBq de ³²P, environ 10 % seulement du comptage étaient pris en considération dans le calcul entre Emax/2 et Emax. Afin d'augmenter la qualité de la deuxième moitié du spectre, nous avons donc été conduits à moyenner les spectres des différents animaux, pour des situations données identiques: sondes de référence dans une série pour un jour donné, versus sonde n°1 dans la même série pour le même jour.

V-E-6 Applications

V-E-6 a) brûlure thermique. Sur le spectre moyen des 3 animaux dont 2 zones de peau ont été chauffées à 55° et 60°c pendant 1 minute, les variables explicatives retenues sont rapportées dans les tableaux 14 et 15. Il apparaît qu'une élévation de température à 55°c induit une vasodilatation majeure sous épidermique (fortement associée à 25,8 mg/cm²) alors qu'une élévation de température à 60°c entraîne un bloc vasculaire au niveau 103 - 155 mg/cm². L'estimation de ces notions étaient impossible à l'analyse des seules droites de Kurie des mêmes spectres.

V-E-6 b) irradiation β. Nous rapportons ici les résultats de la série n° IV portant sur la moyenne de 5 animaux irradiés à 32, 64 et 96 Gy sur le flanc et suivis une fois par semaine de J+1 à J+35.

sonde n°1 (96 Gy) sonde n°2 (64 Gy) sonde n°3 (32 Gy) sonde n°4 (témoin)

Jours suivis	1	7	14	21	28	35	1	7	14	21	28	35	1	7	14	21	28	35	1	7	14	21	28	35
25	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*
51	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*
77	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*
103	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*
129	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*
154	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*
180	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*
206	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*
232	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*
258	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*
309	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*
361	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*
412	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*
464	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*
516	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*

Dans cette série, on peut estimer que la moyenne des spectres obtenus sous la sonde n°4 de référence reflète deux niveaux, stables dans le temps, de vascularisation dans la peau du flanc: un niveau situé à 51 - 77 mg/cm², soit environ 0,5 à 0,7 mm, correspondant au niveau des anastomoses artério-veineuses (*figure 1*) du derme réticulaire, et un niveau situé à 309 - 412 mg/cm² soit environ

Tableau: 14

Régression multilinéaire des spectres de Kurie entre Emax/2 et Emax du P32 et calcul du spectre SP
 les variables retenues ($p < 0,05$) contribuent à réaliser une régression globalement significative à $p < 0,05$
 les coefficients de régression des variables retenues (test F) contribuent à reconstruire le spectre SP

épaisseur massique (mg/cm ²)	coefficient de régression	seuil ($p < 0,05$)	rang (test F)			
25.8	0,1175	0,00001	1			
51.6	0					
77.4	0,0325		6			
103.2	0,0777	0,04800	3			
129	0,0602		4			
154.8	0					
180.6	0					
206.4	0					
232.2	0					
258	0,0225		5			
309.6	0					
361.2	0					
412.8	0					
464.4	0					
516	-0,0775	0,03600	2			
constante				0,0002		
coef. de détermination R ²		0,99410	99,41% de la variance de la mesure sont expliqués par la régression			

		Mesure 55°C
Spectre SP		
Nb channels	173	173
Energie (keV)	SP (%)	Mesure (%)
826-888	21,2	21,2
895-998	27,3	27,3
1005-1107	20,6	20,6
1114-1217	14,3	14,3
1224-1326	9,2	9,2
1333-1436	4,9	4,9
1443-1546	2,1	2,0
1553-1655	0,5	0,5
% total	100,0	100,0

Tableau: 15

Régression multilinéaire des spectres de Kurie entre Emax/2 et Emax du P32 et calcul du spectre SP
 les variables retenues ($p < 0,05$) contribuent à réaliser une régression globalement significative à $p < 0,05$
 les coefficients de régression des variables retenues (test F) contribuent à reconstruire le spectre SP

épaisseur massique (mg/cm ²)	coefficient de régression	seuil ($p < 0,05$)	rang (test F)	Mesure 60°C		
				lb choc	Spectre SP	
25.8	0			160	160	
51.6	0					
77.4	0					
103.2	0,1929	0,00001	2	Energie (keV)	SP (%)	Mesure (%)
129	0,0086	0,00001	3	826-888	23,0	23,0
154.8	0,1145	0,00001	1	895-998	29,3	29,3
180.6	0			1005-1107	20,7	20,6
206.4	0			1114-1217	13,8	13,9
232.2	0			1224-1326	7,9	8,0
258	0			1333-1436	3,5	3,5
309.6	0			1443-1546	1,3	1,3
361.2	0			1553-1655	0,5	0,4
412.8	0					
464.4	0					
516	0			% total	100,0	100,0
constante		0,0748				
coef. de détermination R ² =		0,98820	98,82% de la variance de la mesure sont expliqués par la régression			

3 à 4,1 mm correspondant au plexus hypodermique. On retrouve ici les deux niveaux déjà observés.

Les spectres obtenus sous la sonde n°3 reflètent un bloc vasculaire plus épais (25 - 77 mg/cm²), les spectres obtenus sous la sonde n°2 reflètent un bloc vasculaire plus superficiel que dans la zone de référence (25 - 51 mg/cm²), et les spectres obtenus sous la sonde n°1 reflètent la présence d'un bloc vasculaire en surface (25 mg/cm²) et un bloc intermédiaire (154 - 258 mg/cm²). Pour ces trois doses d'irradiation, le réseau microcapillaire du derme réticulaire semble particulièrement mis en jeu. Cependant, l'effet de lissage des spectres obtenu sur des spectres moyens ne nous autorise pas d'autres conclusions.

V-E-7 Cas particuliers

V-E-7 a) 186 Re. Nous avons utilisé du Rhénium 186 non colloïdal (E_{max} = 1077 keV) dans la même chaîne d'acquisition, et avec les mêmes réglages, c'est à dire 6,85 keV par canal. L'épaisseur de la fenêtre de béryllium imposant toujours une perte de 55 keV, le E_{max} apparent était donc de 1022 keV (figures 15). Sur une série de 3 animaux injectés (figure 16), l'analyse des courbes de charge a montré un plateau p = 139 ± 18 et une pente de - 0,180 ± 0,016.

Le canal moyen obtenu sur 12 spectres de peau normale était de 130 ± 3, correspondant à une énergie moyenne de 890 keV soit une épaisseur massique de 71 ± 11 mg/cm². La répartition en % était de 99,5% du spectre dans les 30 premiers canaux, soit entre 0 et 205 keV.

Les droites de Kurie, ajustées entre E_{max}/3 et E_{max}, après avoir soustrait le bruit de fond moyen au-delà de 1022 keV, donnaient un E_{max} moyen de 879 ± 9 keV pour n = 12, soit 77 ± 5 mg/cm².

Ces deux résultats sont identiques à ceux obtenus avec le ³²P.

V-E-7 b) Phosphore 33 et Erbium 169. Compte tenu de nos conditions d'acquisition, du E_{max} de ces deux radionucléides et de l'importance des basses énergies dans la construction des spectres, les expériences réalisées avec ces deux radionucléides étaient inexploitable.

V-E-8 Corrélations anatomiques

Afin d'estimer la validité des résultats obtenus *in vivo*, nous avons réalisé une série de mesures morphologiques sur biopsies de peau obtenues chirurgicalement sur 11 animaux anesthésiés. Trois séries de quatre biopsies cutanées incluant la partie supérieure de l'hypoderme, ont été prélevées sur la face externe du bras (c'est-à-dire en avant de la sonde la plus antérieure), sur le dos (c'est-à-dire au dessus des sondes n° 2 et 3) et sur la face externe de la cuisse (c'est-à-dire en arrière de la sonde la plus postérieure). Les biopsies ont été congelées dans l'isopentane refroidi dans l'azote liquide puis conservées à -80°, et des coupes sériées au cryostat à -25° ont été effectuées, afin d'être colorées à l'hémalum - éosine. Des mesures ont été réalisées avec un micromètre oculaire (x10) et objectif (x4) portés par un microscope Olympus BH2. Trois coupes différentes par biopsie et 4 biopsies par zone ont concerné:

(couche cornée + épiderme)	= limite de la couche basale de l'épiderme
(couche cornée + épiderme + derme réticulaire)	= limite du réseau capillaire sous-épidermique
(couche cornée + épiderme + derme)	= épaisseur de la peau

Pour chaque zone, les mesures ont été exprimées en m ± ds en µm pour n = 12.

Au total, pour 396 mesures et toutes localisations confondues:

couche basale de l'épiderme	91 ± 19 µm	soit	~ 9 mg/cm ²
limite du réseau capillaire sous-épidermique	333 ± 52 µm	soit	~ 33 mg/cm ²
épaisseur de la peau	2334 ± 330 µm	soit	~ 233 mg/cm ²

Ces résultats correspondent assez bien à ceux obtenus en analyse multilinéaire des spectres de peau.

Figure 15: Rhénium 186: sources avec écrans dans l'air

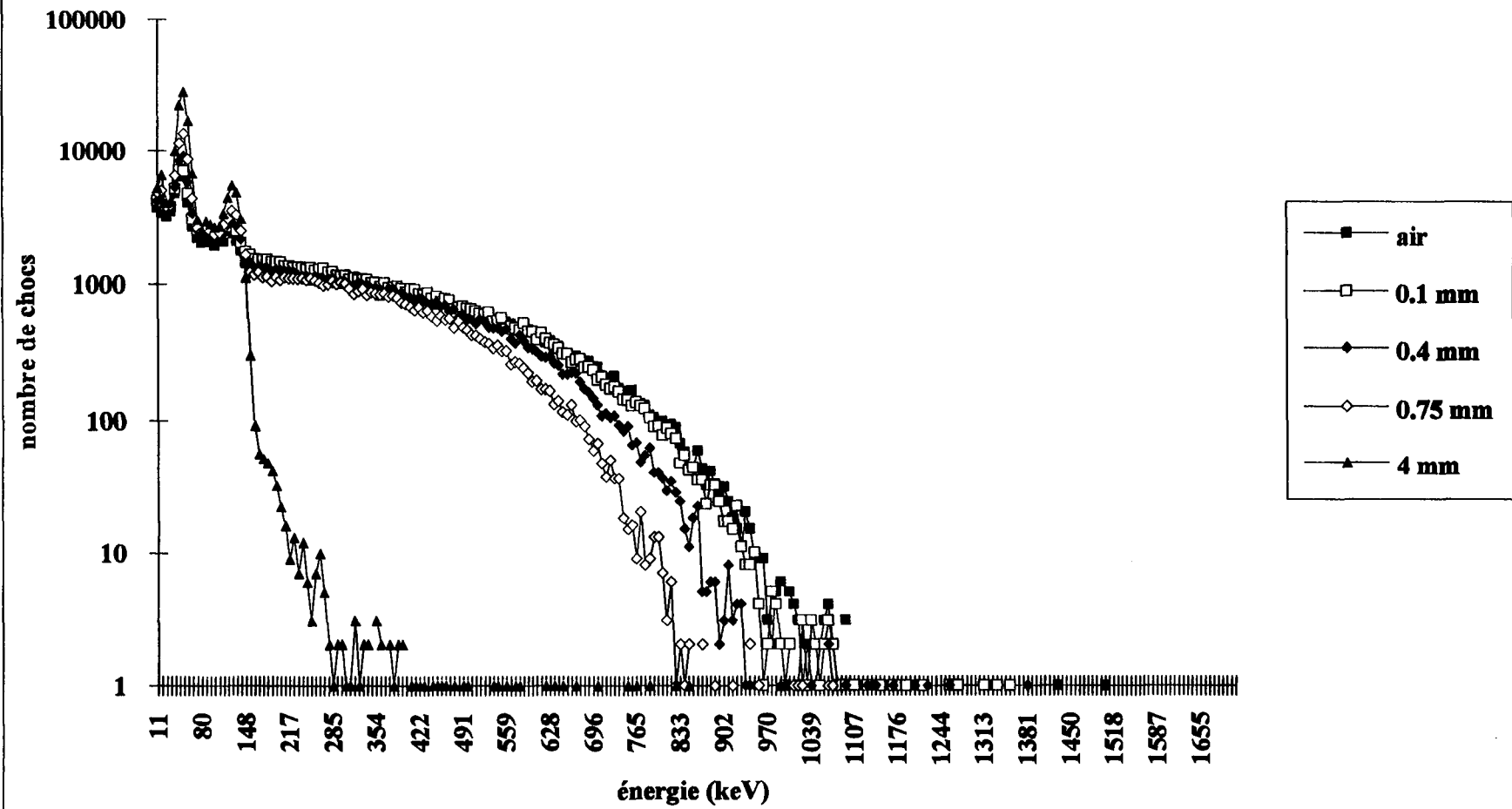
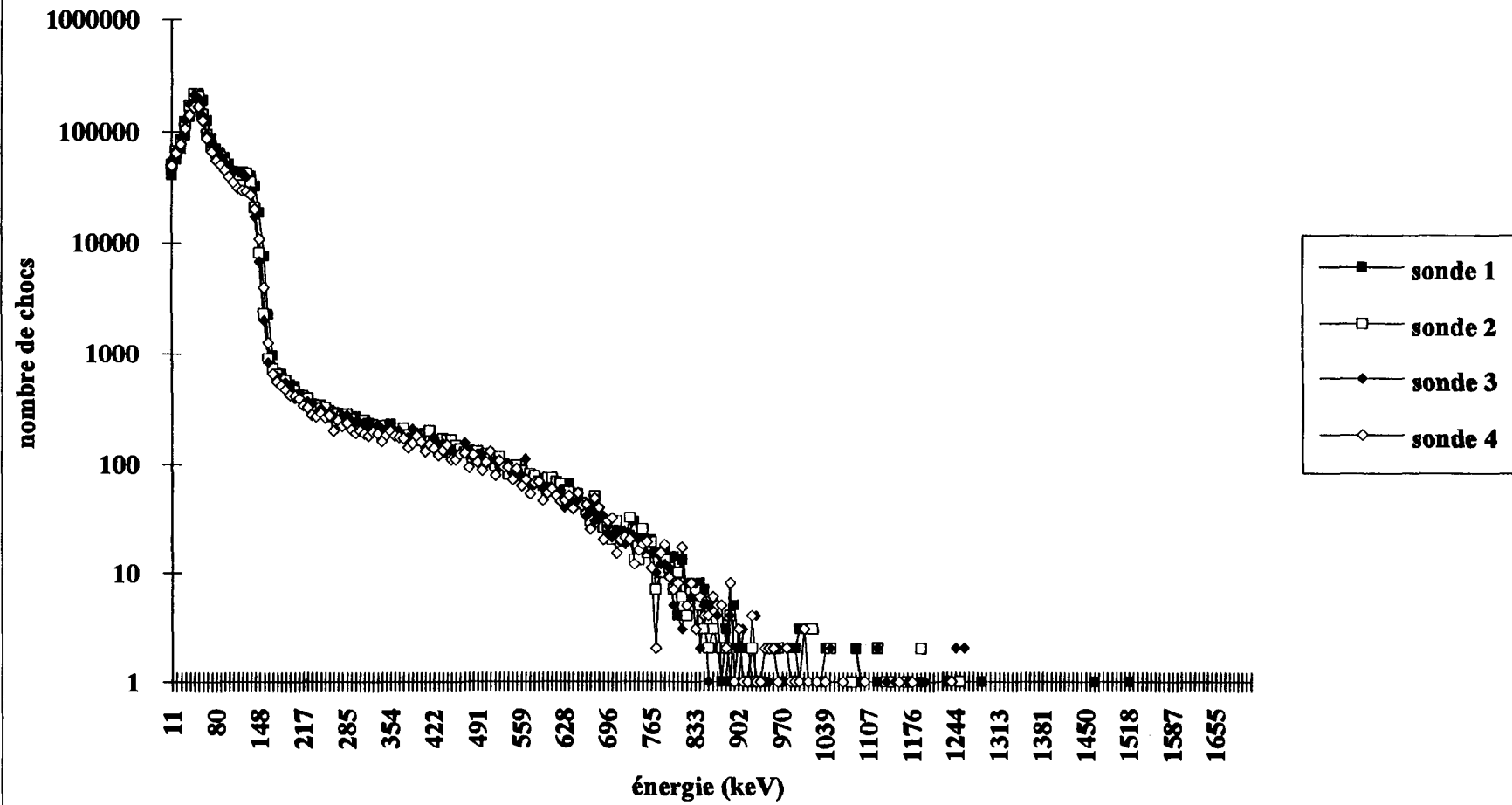


Figure 16: Rhénium 186: spectres bruts de peau normale



VI - COMPARAISONS AVEC D'AUTRES METHODES

VI-A LASER DOPPLER CUTANE

La mesure du flux cutané micro-circulatoire par laser Doppler constitue un progrès important pour l'évaluation de la microcirculation. Son caractère non vulnérant, sa mise en oeuvre facile, la possibilité d'étude de vaisseaux inférieurs à 50 μm , la réalisation d'enregistrements continus, en font une méthode de choix pour la pratique d'investigations hémodynamiques. Le laser Doppler cutané a permis l'évaluation de la perfusion micro-vasculaire impliquée en pathologie dermatologique, en angiologie et chirurgie vasculaire, en neurochirurgie et en chirurgie plastique. Chez l'homme, ce système de mesure de la vascularisation cutanée a été utilisé dans de nombreuses indications sur des sujets sains, avec la détermination de 3 grands groupes d'individus humains (Maurel et al., 1991) ou encore en fonction de l'anatomie (Tur et al., 1983). Ce système d'exploration a également été utilisé comme facteur prédictif pour estimer la probabilité de survie de greffes cutanées chez les grands brûlés (Atiles et al., 1995), ou encore chez des malades en cours de traitement par radiothérapie externe (Amols et al., 1988). Cependant, la très grande variabilité des valeurs inter-individuelles interdit toute conclusion uniquement basée sur les valeurs du flux basal au repos, puisque chez des volontaires sains, les extrêmes vont de 30 à 650 cV (Maurel et al., 1991). Les tests de provocation, principalement épreuve au froid ou stimulation par élévation de température, sont donc très importants avec en particulier des tests d'hyperhémie post-occlusive après quelques minutes de garrot en mesurant les temps de 1/2 retour et de retour à l'équilibre.

Chez le porc, le laser Doppler cutané a déjà été utilisé dans l'évaluation de la microcirculation en fonction des régions anatomiques (Monteiro-Rivière et al., 1990).

VI-A-1 Principe de la méthode

Un faisceau de lumière Laser conduit par une fibre optique sur la zone de mesure, est diffusé et est partiellement absorbé par le tissu étudié. La lumière réfléchi par les cellules en mouvement subit une modification de sa longueur d'onde (effet Doppler) alors que la lumière réfléchi par les structures fixes reste inchangée. La magnitude et les variations de fréquence de ces changements de longueur d'onde sont proportionnels au nombre et à la vitesse des globules rouges, mais sans relation avec la direction de leurs mouvements. Cette information recueillie par la fibre de réception est convertie en un signal électronique, lui même traité et analysé.

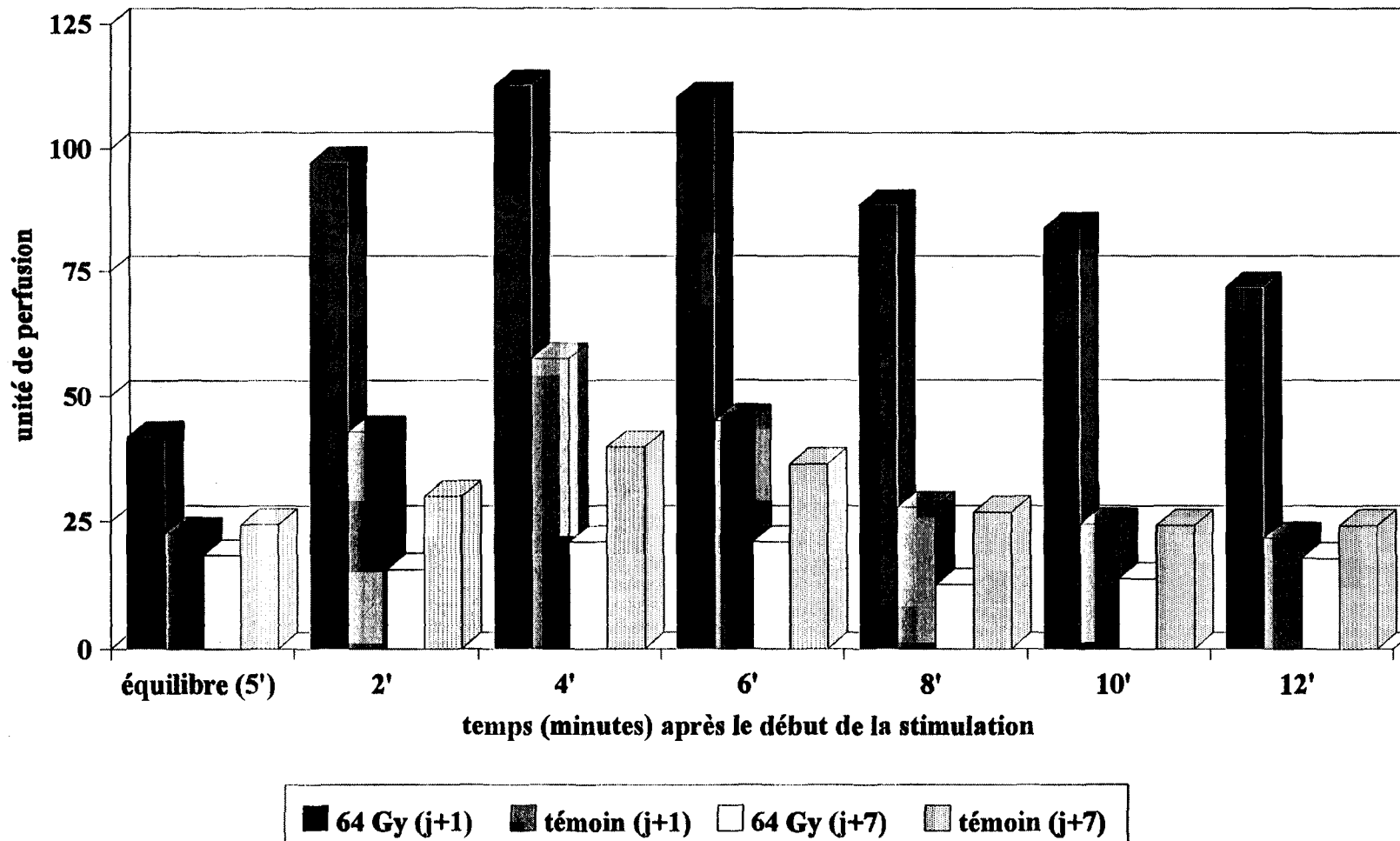
Les mesures de perfusion réalisées par laser Doppler sont ainsi exprimées en "unités de perfusion" (UP) telles que la perfusion (ou flux capillaire) est égale au produit du nombre de cellules en mouvements dans le volume de mesure, par la vitesse moyenne des cellules. Bien que ces mesures exprimées dans une unité relative soient proportionnelles à la perfusion, le facteur de proportionnalité peut varier d'un tissu à l'autre, ou d'une zone anatomique à l'autre dans le même tissu.

VI-A-2 Matériel et Méthodes

Nous avons utilisé un Périflux 4000 (Perimed AB, Suède) qui nous a permis d'évaluer le flux sanguin du lit vasculaire cutané en fonction de la longueur d'onde de la lumière émise (pour $\lambda = 784$ nm, la limite en profondeur est $\sim 1500 \mu\text{m}$).

Dans un groupe de 5 porcs Large White irradiés à une dose unique de 64 Gy β sur le flanc, nous avons utilisé, 1 jour et 7 jours après irradiation, le système Périflux 4000 relié à un microordinateur PC, couplé à un système Péritemp (Perimed AB, Suède) qui permet d'élever rapidement à 42 - 44°C la température du support de sonde. Une voie de mesure était attribuée à la zone irradiée et l'autre voie était attribuée à une zone cutanée normale adjacente. Les mesures en continu étaient réalisées

Figure 17: laser Doppler cutané: modification de la perfusion après stimulation (43°C/5 minutes)



sur animaux anesthésiés après lavage et séchage des zones cutanées, et après une période de 15 minutes de mise à l'équilibre de la circulation cutanée. Les supports de sonde étaient appliqués et maintenus par des pastilles de papier adhésif double face afin de permettre la séquence d'acquisition suivante: 1) mesure pendant 5 minutes à l'équilibre; 2) stimulation par élévation de température à 43°C pendant 5 minutes; 3) mesure du retour au niveau d'équilibre pendant 10 à 15 minutes après arrêt de la stimulation.

VI-A-3 Résultats

VI-A-3 b) flux capillaire de la peau normale: la moyenne des 5 animaux à J+1 et J+7 après irradiation est représentée à la *figure 17*. Les valeurs à l'équilibre sont identiques à une semaine d'intervalle (23 ± 13 vs 24 ± 7 unités de perfusion (UP)) et l'évolution pendant et après l'élévation de température est identique, avec un facteur ~ 2 d'augmentation du niveau de perfusion à l'équilibre, 4 minutes après le début de la stimulation. Le retour au niveau d'équilibre est atteint environ 5 minutes après l'arrêt de la stimulation.

VI-A-3 a) flux capillaire de la peau irradiée à J+1: il apparaît que le niveau moyen de la perfusion à l'équilibre est deux fois plus élevé dans la zone irradiée que dans la peau normale adjacente (42 ± 13 vs 23 ± 13 UP), ce qui correspond à la réaction érythémateuse observée, bien que très atténuée sous l'effet de l'anesthésie. L'évolution pendant et après l'élévation de température est beaucoup plus importante que dans la peau normale adjacente, avec un facteur ~ 3 d'augmentation du niveau de perfusion à l'équilibre, 4 minutes après le début de la stimulation. Le retour à l'équilibre n'est pas atteint et ce facteur est toujours observé 7 minutes après l'arrêt de stimulation (72 ± 26 vs 22 ± 8 UP), ce qui correspond à une hyper-réactivité vasculaire.

VI-A-3 c) flux capillaire de la peau irradiée à J+7: en absence de réaction clinique observable, il apparaît que le niveau moyen de la perfusion à l'équilibre est identique à celui de la peau normale adjacente (18 ± 2 vs 24 ± 7 UP). L'évolution pendant et après l'élévation de température montre une augmentation d'un facteur ~ 2 de la perfusion dans la peau normale par rapport à la peau irradiée (40 ± 18 vs 21 ± 15 UP) 4 minutes après le début de la stimulation. Dans nos conditions expérimentales, le niveau d'équilibre peut être considéré comme inchangé compte tenu de la faible réactivité du système capillaire en territoire irradié (*Figure 17*).

VI-B MODIFICATIONS DU DÉBIT SANGUIN LOCAL

Il n'y a pas de technique qui mesure l'ensemble du débit sanguin cutané, mais seulement des approximations faites à partir de mesures locales (Swain et Grant, 1989).

Les méthodes utilisées pour mesurer le débit sanguin cutané font appel à 3 paramètres physiologiques différents: déplacement physique, transport de chaleur, et teneur ou transport en oxygène. Seules deux méthodes (thermographie et coloration par la fluorescéine) donnent une indication du débit sanguin régional; les autres méthodes n'observent que de petits volumes de tissus, sur différentes zones et à différentes profondeurs: pléthysmographie (c'est à dire variation de volume), clairance isotopique à partir d'une application ou d'une injection locale, et plus récemment mesure des vitesses de circulation sanguine par ultra-sons ou laser Doppler.

- & - Les altérations du débit sanguin cutané après une irradiation locale ont été mises en évidence chez le modèle porc, en étudiant les courbes bi-exponentielles de clairance (c'est-à-dire de la vitesse d'élimination) du ^{99m}Tc pertéchnétate injecté par voie intra-dermique, dans les zones saines et irradiées (Moustafa et Hopewell, 1979). Entre 8 et 20 Gy, les valeurs des composantes rapides et lentes diminuent jusqu'à la 3ème semaine puis augmentent jusqu'à la 12ème, proportionnellement à la

dose. Il existe une corrélation entre la réduction du débit sanguin à 12 semaines et les lésions tardives à 6-12 mois, appréciées par la contraction du champ irradié (Hopewell et coll., 1978).

Chez l'homme, Amols et coll. (1988) ont noté, pour des doses supérieures à 50 Gy en irradiation thérapeutique, une augmentation, détectable dès 2 Gy, égale à 10 - 25 fois le débit sanguin cutané normal. Le flux sanguin cutané diminue très vite après l'arrêt du traitement, mais il reste égal au double de la normale au moins jusqu'à 1 an après exposition.

- & - De nombreux auteurs (revue dans Law et Thomlinson, 1978) ont essayé d'apprécier simultanément les modifications du débit sanguin et de la perméabilité vasculaire dans un tissu irradié. Par exemple, au niveau des oreilles chez le rat une dose de 10 Gy entraîne une vasodilatation, à laquelle s'ajoute à 20 Gy une extravasation de l'albumine (P.M. 65.000) puis à 40 Gy de fibrinogène (P.M. 340.000). En ce qui concerne les effets tardifs, Keyeux et coll. (1971) avaient noté que le débit sanguin cutané restait stable pendant 10 mois avant de décroître significativement; pour cet effet la dose seuil était de 1500 R. Horn et coll. (1974) et de Ruiter et van Putten (1975) ont observé une réduction de la vasodilatation compensatrice après un garrot.

- & - Chez l'homme l'exploration isotopique des gros et moyens vaisseaux (scintigraphie vasculaire) a été utilisée avec du ^{99m}Tc pyrophosphate, injecté par voie endoveineuse, sur les mains d'irradiés accidentels, pour étudier le transit vasculaire et les modifications du débit sanguin (Jammet et Gongora, 1981; Baptist et coll., 1983; Flury-Hérard, 1986; Gongora et coll., 1989): cette méthode a une bonne valeur pronostique mais la corrélation avec la dose est faible en raison d'un phénomène de saturation assez rapide.

- & - Les images scintigraphiques des mains irradiées montrent une activité supérieure à la normale, exprimée par le rapport des taux de comptage par unité de surface; le délai d'apparition est plus court et l'amplitude du premier passage est plus élevée du côté irradié. En ce qui concerne les séquelles tardives, elles se présentent généralement sous la forme d'une hypovascularisation; les poussées évolutives reproduisent les images précoces d'hypervascularisation, mais les courbes de premier passage vasculaires se caractérisent par l'absence de pic d'amplitude. Les limites des explorations du débit sanguin cutané dans les séquelles tardives avaient été suggérées par Roswit et coll. (1953): une étude isotopique conduite avec le ^{22}Na , pendant 10 ans après des doses cumulées de 36 à 204 Gy, a montré que, sur 37 patients, 1 avait une clairance réduite et 12 une clairance augmentée, en dépit du développement de la fibrose et de l'atrophie. Il est certain qu'il existe un phénomène de compensation entre les réseaux vasculaires superficiels (diminués) et les réseaux vasculaires profonds (augmentés) dont la résultante ne modifie pas la clairance cutanée globale.

- & - Parmi les autres méthodes non invasives proposées pour apprécier la circulation sanguine superficielle citons la diffusion transcutanée du ^{133}Xe essayée dans le psoriasis (Klemp et Bojsen, 1986), les mesures au laser Doppler (Holloway et Watkins, 1977).

- & - La capillaroscopie semble très intéressante dans l'évaluation des lésions tardives des extrémités, surtout associée à une cryostimulation: on teste alors l'état fonctionnel de la microcirculation (Pennarola, 1986). Malgré une différence notable entre les valeurs relevées sur les sujets témoins, l'allure des courbes est comparable, avec une phase initiale exponentielle, un retour à la valeur normale en 3-5 minutes, suivi par une courte phase d'hyperthermie. Les lésions des capillaires entraînent des aspects différents de la réponse thermique, qui est ou très allongée ou très raccourcie, correspondant à des différences morphologiques; dans le dernier cas les capillaires très rigides sont quasiment insensibles aux chocs thermiques. Lorsque la réponse est très allongée (> 15 minutes), on observe une modification de la réactivité vasculaire, avec une phase initiale de vasoconstriction, suivie d'une dilatation maximale des capillaires (Ippolito et Di Carlo, 1992). Enfin Brumen et coll.

(1994) ont mis en évidence, sur 33 sujets irradiés au niveau des mains et 30 témoins, la validité des méthodes de capillaroscopie du lit unguéal et de la dermothermométrie digitale pour les lésions capillaires, et de la photopléthysmographie digitale pour les lésions artériolaires.

VI-C CONDUCTIVITÉ THERMIQUE

VI-C-1) La conductivité thermique de la peau caractérise la faculté qu'elle a de conduire la chaleur: c'est un bon reflet de l'irrigation sanguine cutanée, qui ne dépend pas de son épaisseur mais seulement de ses éléments constitutifs; la relation entre le débit sanguin et le coefficient de conductivité thermique est assez complexe et semble varier avec la zone mesurée selon la présence de gros ou de petits vaisseaux. Des sondes ont été proposées (Hematron, ND) qui peuvent apprécier le flux sanguin cutané et sous-cutané jusqu'à une profondeur de 5 à 8 mm (Dittmar et coll., 1980; Eberhart et coll., 1980; Grippari, 1982; Dittmar et coll., 1991). Sur le modèle porc, cette méthode non traumatisante et sensible, mais demandant au moins 15 min par point de mesure, met en évidence les augmentations précoces de débit (pendant la première phase d'érythème) avec une certaine proportionnalité aux doses appliquées (Daburon et coll., 1984).

VI-C-2) Relation entre les variables cutanées bio-électriques et thermovasculaires. Une nouvelle méthode a été mise au point pour quantifier simultanément la réponse électrodermale (électrode Ag-AgCl) et le débit sanguin cutané (Hematron) lors d'une situation d'activation mentale (Vernet-Maury et coll., 1991). La plupart des sujets présentent une réponse en miroir de ces deux paramètres, avec une augmentation du potentiel et une diminution du débit sanguin cutané.

VI-D THERMOGRAPHIE

Les mesures thermographiques recouvrent trois aspects de la physiologie cutanée: débit sanguin tissulaire, conductivité thermique tissulaire et thermogénèse métabolique.

VI-D-1) Thermographie infra-rouge

Le corps humain émet un rayonnement infra-rouge de longueur d'onde comprise entre 4000 et 20000 nm, avec un maximum à 9500 nm: à cette longueur d'onde il suffit de quelques micromètres de tissu pour absorber l'émission infra-rouge. L'avantage principal de la thermographie infra-rouge est de suivre l'évolution topographique de la zone exposée avec également des informations sur l'intensité de l'atteinte. L'examen doit être précoce: la phase hyperthermique est fugace, ne durant souvent que 24 heures et réapparaissant après 3 semaines. Le seuil de réponse est de 2 Gy: à cette dose correspond une élévation de température de 1°. Une élévation de 2° ne signe qu'une évolution infra-clinique; avec 3° apparaissent des troubles fonctionnels réversibles; avec 4° et 5° les lésions sont sévères, conduisant à l'acte chirurgical pour les réactions les plus fortes.

La difficulté principale de l'interprétation d'une image de thermographie est le manque de données de références correspondant à des valeurs témoins. Une étude thermographique des mains (parties du corps les plus exposées à des accidents) a été réalisée chez 50 témoins et sur 100 accidentés exposés sur une seule main: chez les témoins la température moyenne est de 33° chez les hommes et 31° chez les femmes, où elle varie en fonction du cycle; la paume est plus chaude de 0,5° que la face dorsale, et de 1° (homme) et 2,5° (femme) que les doigts; les fumeurs ont une température moyenne de 1° supérieure à celle des non fumeurs.

Selon les observations conduites sur des irradiés accidentels, les mesures infra-rouges permettent de visualiser une importante hyperthermie des territoires exposés, longtemps avant l'apparition des signes cliniques: les différences entre régions symétriques peuvent atteindre 7°C (Gongora et coll., 1989); fréquemment, à ce stade du premier jour, au-delà duquel le phénomène peut s'estomper, les courbes isothermes circonscrivent pratiquement les isodoses calculées (quand c'est possible α

posteriori) et correspondent aux courbes d'isocomptage observées en scintigraphie (Jammet et Gongora, 1981; Kőteles et coll., 1987).

Du point de vue du diagnostic on note sur les mains irradiées une désorganisation des isothermes, une absence de zones concentriques régulières et l'existence de zones chaudes; l'existence de points chauds avec des limites nettes et des différences de température supérieures à 2° militent fortement en faveur d'une surexposition localisée. Mais cette méthode de mesure demeure très superficielle, puisque l'émission infra-rouge est absorbée par quelques micromètres, et ne donne qu'une information relative sur l'évolution des lésions en profondeur: néanmoins la profondeur de l'atteinte au niveau des mains peut être suggérée par la comparaison des températures des faces palmaires et dorsales (Flüry-Hérard, 1986). Enfin, l'évolution tardive des lésions peut être appréciée par l'apparition de zones hypothermiques (fibrose, atrophie) ou hyperthermiques (reprise évolutive).

VI-D-2) Thermographie micro-ondes. Tout matériau porté à une température Q° émet un rayonnement électromagnétique d'origine thermique dont l'intensité et le spectre de fréquence dépendent de la température; selon la bande de fréquence utilisée entre 10 et 1 GHz, la profondeur explorée varie respectivement de 0,4 à 4 cm dans les tissus très hydratés, et jusqu'à 5 cm dans les tissus peu hydratés (graisse, os) (Edrich et Hardee, 1963; Barrett et Myers, 1963; Leroy, 1982; 1984; Mamouni et coll., 1989). Ainsi sur un modèle expérimental d'irradiation localisée sur la cuisse chez le porc, une loi dose-effet a pu être établie en 15 jours, entre la dose délivrée par une source collimatée de ^{192}Ir , mesurée à 2 cm de profondeur, et l'intensité de la réaction thermique locale; celle-ci était mesurée avec une sonde thermographique accordée à 3 GHz et capable d'apprécier des différences de température de 0,2 à 0,3°C jusqu'à 2-3 cm de profondeur. Il existe actuellement des sondes accordées à 10, 3 et 1 GHz, explorant respectivement jusqu'à des profondeurs de 0,5-0,8 cm, 2-3 cm et 4-5 cm, permettant de définir un volume thermique et son évolution dans le temps (Daburon et coll., 1984; Daburon et coll., 1985).

D'autre part, le couplage de mesures de la température à la surface de la peau (avec une thermistance) et de mesures plus profondes (par sonde micro-ondes) permet de faire en une dizaine de jours le diagnostic différentiel entre une irradiation superficielle (la réaction thermique inflammatoire n'affecte que la mesure superficielle) et une irradiation profonde (la réaction thermique affecte les deux mesures, superficielle et profonde) (Daburon et coll., 1986).

Une loi dose-effet paraît encore difficile à établir chez l'homme en raison du relatif manque de sensibilité des appareils actuellement en service et compte tenu des doses (thérapeutiques) relativement faibles délivrées en une fois, qui pourraient permettre l'établissement de cette loi. Toutefois, la thermographie micro-ondes autorise une certaine quantification de la réaction thermique précoce qui aura une bonne valeur pronostique. Plus tardivement, la détermination d'une zone froide au centre de la lésion signe le début de la nécrose qui apparaît seulement dans le cas où se développe un ulcère profond qui n'évoluera pas vers la cicatrisation. La chirurgie des tissus nécrosés est alors la seule solution thérapeutique.

VI - E CLAIRANCE du ^{133}Xe .

VI-E-1) Les différentes méthodes utilisées chez l'homme. Si l'on s'en tient uniquement aux propriétés du Xénon 133 intéressantes pour l'exploration fonctionnelle du débit sanguin, on peut dire que c'est un gaz rare, caractérisé par son inertie chimique, sa solubilité dans les graisses, sa faible solubilité dans l'eau (plus à froid qu'à chaud) et ses émissions X à 30-36 keV (46 %) et γ à 79,6-81 keV (38,3 %). Plusieurs méthodes ont été proposées pour évaluer la circulation locale, cutanée et musculaire, à l'aide du ^{133}Xe en solution (Sejrsen, 1969; 1971):

- 1) injection intra-cutané ou intra-musculaire d'un très petit volume ($\leq 0,1$ ml) avec une aiguille très fine ($\varnothing \leq 0,25$ mm) de la solution et suivi de la clairance locale du ^{133}Xe par un détecteur gamma;
- 2) application épicutanée, c'est à dire directement sur la peau ("washout method"), de ^{133}Xe en solution ou sous forme gazeuse, au moyen d'une chambre de plexiglass ($\varnothing = 4$ cm, $V = 0,1$ ml); après 3 min de contact, la chambre est vidée par aspiration à la seringue, la surface de la peau séchée délicatement par un papier absorbant et une feuille de Mylar ($\varnothing = 6$ cm) est placée sur la surface étudiée pour éviter une diffusion du xénon vers l'extérieur; la clairance locale du ^{133}Xe est mesurée par un détecteur γ placé en regard de la zone contaminée;
- 3) injection du ^{133}Xe en solution dans la circulation sanguine; cette méthode a été plutôt réservée aux mesures de circulation dans les organes (cerveau, foie et rein) mais peut être appliquée à des mesures locales de la circulation dans la peau et les tissus sous-jacents. Une formule (Guiraud et coll., 1975) donne le débit sanguin cutané (DSC) à partir de la période de la clairance enregistrée et du coefficient de partage pour la peau et le muscle, soit 0,7 : $\text{DSC} = (69,3 \times 0,7) / T_{1/2}$
la DSC est exprimé en ml/min/ 100 g de tissu.

Belcher et coll. (1971) donnent après application épicutanée de ^{133}Xe gazeux la valeur de 5 ml/min pour l'homme normal. En injection intracutanée de ^{133}Xe en solution saline, Sjersén (1971) observe 6 et 3 ml/min, respectivement pour la peau et le tissu cellulaire sous-cutané; en ajoutant 20 μg d'histamine à ce type d'injection, Guiraud et coll. (1975) donnent pour l'homme des valeurs de 10-15 ml.

VI-E-2) Expérimentations réalisées chez le porc irradié localement. Le ^{133}Xe a été utilisé à l'état dissout dans le sérum physiologique dans des seringues auto-injectables (carpules) ou des flacons perforables de type insuline. S'il est aisé d'utiliser le contenu entier d'une seringue, ou fractionné en 2-3 injections dans un délai très rapproché, il est difficile d'effectuer plusieurs prélèvements à partir d'une ampoule transvasée dans un flacon de type pénicilline: en effet la solution, même maintenue à 4°, dégaze rapidement et devient inutilisable. On peut essayer néanmoins de préparer aussitôt l'ouverture de l'ampoule un certain nombre de seringues, fermées, sans espace mort où pourrait s'accumuler le xénon issu du dégazage et maintenues au froid, que l'on doit utiliser très rapidement (quelques heures).

Si l'on effectue une administration par voie endoveineuse et que l'on ne suit la clairance que pendant un temps limité, on peut apprécier la valeur relative de la perfusion sanguine entre la zone irradiée et une ou deux zones périphériques témoin. Bien que le xénon soit très lipophile, la perfusion dans le tissu adipeux sous cutané est faible, ce qui permet de négliger son influence au cours des premières minutes de mesure. L'évolution de la concentration sanguine du xénon peut être approchée par une mesure de la zone cardiaque par exemple ou de l'élimination pulmonaire (mesure par chambre d'ionisation et circulation de type FMAT 20).

VI-E-2 a) Protocole. Entre 11 et 22 MBq de ^{133}Xe en solution ont été administrés par un cathéter jugulaire à demeure à des porcs Large White (femelle, 30-50 kg), irradiés sur la cuisse par une source d'iridium 192, à la dose de 160 Gy à la basale de l'épiderme, soit 40 Gy à 2 cm de profondeur. Trois détecteurs (cristal NaI activé au thallium, 25 x 3 mm) étaient placés sur la cuisse des porcs anesthésiés à l'halothane, l'un en regard de la lésion, les deux autres à 3-5 cm de distance, en regard de zones saines. Une quatrième voie était réservée à la mesure de l'air expiré à l'aide d'un moniteur de mesure de ^3H et de ^{14}C gazeux (FMAT-20, SAPHYMO-SRAT), dont la sensibilité avait été modifiée pour éviter une saturation de la chambre d'ionisation due à la plus forte énergie du xénon. Ces quatre voies de mesure attaquaient un spectromètre γ (analyseur Varro-SILENA) selon le mode multi-échelle; chaque mesure durait 50 secondes, les valeurs des canaux sous les pics étaient

sommées (entre 15-50 keV, pour le pic des X et 50-100 keV, pour le pic des γ) et enregistrées dans un ordinateur; celui-ci restituait les courbes représentant la clairance à raison de 1 point par minute (temps de stockage + temps de traitement). L'objectif était d'utiliser les différences d'absorption respectives entre le pic des X et celui des γ pour essayer d'apprécier les modifications de profondeur du lit vasculaire où circulait le ^{133}Xe injecté.

VI-E-2 b) Résultats *in vitro*: absorption dans l'eau des rayonnements γ et X du ^{133}Xe .

La couche de demi-épaisseur est de 1,96 cm pour l'X de 31 keV et de 2,25 cm pour le γ de 81 keV. Si l'on compare l'évolution des taux de comptage mesurés sous le pic d'X (S31, entre 15 et 50 keV) et sous le pic de γ (S81, entre 50 et 100 keV) en fonction d'écrans de PVC ($d \approx 1$) et d'épaisseur croissante on aura :

Tableau 16: absorption dans l'eau des rayonnements γ et X du ^{133}Xe

	pic à 31 keV (S31)	pic à 81 keV (S81)	rapport 31 / 81
dans l'air	100%	100%	1
à 1 cm	57,1%	63,4%	0,90
à 2 cm	38,3%	48,3%	0,80
à 3 cm	28,6%	37,4%	0,76
à 4 cm	18,6%	27,3%	0,68
à 5 cm	13%	22,2%	0,58
à 6 cm	10,7%	18,7%	0,57

La lésion musculaire s'étend en profondeur jusqu'à 3,5 cm pour 160 Gy et 4,5 cm pour 260 Gy à la basale de la peau; quelle que soit la dose en surface la nécrose post radique s'étend au sein des tissus qui ont reçu une dose de $18,8 \text{ Gy} \pm 4,6 \text{ Gy}$ avec $n = 6$ (Lefaix et coll., 1993).

On voit donc que pour les doses qui nous intéressent et entre 3 et 5 cm, les différences relatives d'atténuation semblent faibles pour pouvoir mettre en évidence:

- 1) des modifications de l'absorption du rayonnement émis par le ^{133}Xe en fonction des modifications de l'épaisseur des couches cutanées consécutives aux lésions inflammatoires ou de fibrose;
- 2) des modifications de l'importance respective des différents lits vasculaires vis à vis de leur contribution dans le débit sanguin cutané.

En utilisant la technique de soustraction de spectre (S81 - S31) de Crawley et Veal (1971) on retrouve la réponse maximale des détecteurs à 2 cm de profondeur.

VI-E-2 c) Résultats *in vivo*

Le débit sanguin cutané (DSC) en ml/min/100g de tissu est mesuré par la formule: $= (69,3 \lambda) / T_{1/2}$ avec λ , coefficient de partage du ^{133}Xe dans la peau égal à 0,7.

Chez le témoin, le DSC est de $3,2 \pm 1,32 \text{ ml/min/100 g tissu}$, avec: $\sigma_m / \sqrt{n} = 0,3$ et $n = 19$; de J+22 à J+34 on a $3,9 \pm 1,13 \text{ ml/min}$ avec $\sigma_m / \sqrt{n} = 0,5$ et $n = 5$; de J+42 à J+65 le débit passe à $5,4 \pm 3,3 \text{ ml/min}$, avec $\sigma_m / \sqrt{n} = 1,47$.

Les différences ne sont pas significatives; la variabilité inter-animal avec cette méthode est trop élevée. Par contre sur le même animal, exposé à 160 Gy au niveau de la basale cutanée, on observe une augmentation du débit sanguin cutané: les valeurs sont données en % de la valeur mesurée au

niveau des zones témoins périphériques (*Tableau 17*).

Tableau 17: augmentation du débit sanguin cutané après une irradiation à 160 Gy

Observation	J+1	J+2	J+7	J+9	J+17
(irrad./témoin) % pic γ	+ 0 %	+ 14 %	+ 18 %	+ 11 %	+ 26 %
pic X	+ 9%	+ 20 %	+ 30 %	+ 22 %	+ 17 %
aspect clinique	érythème moyen bien circonscrit	érythème moyen bien circonscrit	congestion passive thrombose	érosion avec couronne inflammatoire	ulcère avec érosion périphérique

La réaction superficielle (X) semble plus intense que la réaction profonde (γ) sauf à J+17, date où se produisent des phénomènes de nécrose profonde.

Tableau 18: évolution du débit sanguin musculo-cutané superficiel, chez 4 animaux exposés à 160 Gy au niveau de la basale cutanée, exprimé en % des valeurs témoins

	J0	J+1	J+22-24	J+33-34	J+42-44
valeurs des rapports	1 - 1,06	0,97 - 1	0,84 - 0,91	1,03 - 1	0,78 - 0,64
ε	1,03	0,985	0,59	1,01	0,53
σ	0,04	0,02	0,78	0,02	0,65
augmentation du DSC			0,17		0,12
			+ 28 %		+ 54 %

L'augmentation du débit sanguin superficiel est significative à 22 - 24 jours, période correspondant à une phase d'épidermolyse accompagnée d'une réaction inflammatoire périphérique importante, et à 42 - 44 jours, période correspondant à la formation d'un sillon de déhiscence autour de la zone cutané-musculaire nécrosée, processus accompagné également d'une forte réaction inflammatoire locale et générale.

Remarque: Les phases d'érythème (actif ou passif) ne sont apparemment pas mises en évidence avec cette méthode. Par contre certains phénomènes peuvent être analysés d'une manière plus fine:

- après chauffage de la peau à 50°: le DSC passe de $5,3 \pm 0,2$ à $1,4 \pm 0,02$ ml/min/100g, sans doute à cause de la réaction oedémateuse consécutive à ce type d'agression.
- si l'on administre un vasodilatateur (buflomedil) par voie parentérale, chez un porc 22 jours après une irradiation réalisée dans les mêmes conditions que précédemment, on note, comme on pouvait s'y attendre, une augmentation de débit (de 3,3 à 8 ml/min/100g tissu) pour la zone témoin; pour la zone irradiée le débit passe de 5,6 à 4,1, mettant apparemment en évidence le phénomène de perfusion de luxe.

Evolution du rapport entre les surfaces sous les pics à 31 et 81 keV (S₃₁ et S₈₁): les valeurs des rapports S₈₁/S₃₁ ont été établies chez 2 porcs irradiés sur la cuisse à la dose de 240 Gy à la base de la peau et suivies pour des temps variant de J0 (témoin) à J+17 (ulcère débutant), en passant par les stades d'érythème, d'épidermolyse et d'escarre. Les rapports varient pour chaque zone de mesure (1 sonde sur la zone irradiée et 2 sur les zones témoins) et correspondent à des profondeurs comprises entre 1 et 4 cm d'écran équivalent tissu (*Tableau 16*). Malheureusement, pour chaque zone anatomique, le rapport ne varie pas de façon significative au cours de l'évolution des lésions.

Conclusion: la technique de traitement des spectres n'est pas adaptée à l'exploration de la circulation superficielle sans doute à cause des énergies d'émission trop élevées des rayonnements X et γ du ¹³³Xe. D'autre part les différences entre les débits sanguins superficiels et profonds ne sont probablement pas assez marquées.

Remarque: malgré la difficulté d'assurer un mode d'injection parfaitement reproductible de la solution de ¹³³Xe, il semble que le pic à 81 keV apparaît nettement avant celui à 31 keV au cours de l'enregistrement des spectres successifs (stockés sur 1 minute); ce décalage pourrait apporter une information sur l'intensité de la circulation superficielle par rapport à celle de la circulation profonde. Enfin il faut préciser que les calculs sur les rapports S₈₁/S₃₁ ont été fait au moment où les taux de comptage étaient maximaux (5 minutes).

VII - CONCLUSION - LIMITES DE LA METHODE

Le fait que, parallèlement aux effets aigus consécutifs aux fortes doses d'irradiation, les tissus irradiés présentent souvent des modifications vasculaires tardivement après exposition, et que le temps de renouvellement des cellules endothéliales soit très long, a conduit certains auteurs à estimer que le dommage vasculaire était responsable de toutes les lésions tardives dues aux rayonnements. Cependant, compte tenu des rapports étroits entre les éléments vasculaires et le parenchyme, il est en réalité très difficile de déterminer si les effets tardifs sur les cellules du parenchyme sont une conséquence directe de l'irradiation ou bien le résultat indirect des atteintes des éléments des tissus vasculaires et conjonctifs.

Après une irradiation, l'apparition précoce de microthrombi demande une exposition à une dose au moins égale à 20 Gy (occlusions locales dans les artères de la peau de porc après une dose de 23 à 25 Gy). Les lésions histologiques des capillaires montrent dans ce cas, un gonflement des cellules endothéliales et des décollements de la basale, favorisant à ce niveau l'agrégation plaquettaire et les dépôts de fibrine. L'accumulation de liquides et de substances dissoutes dans la paroi des vaisseaux entraîne leur épaissement qui entravera la circulation. Plus tardivement, si la dose n'est pas trop élevée, la prolifération excessive des cellules endothéliales survivantes entraînera également des obstructions des petits vaisseaux. Le raccourcissement des capillaires et des artérioles après irradiation va entraîner des épaissements des parois plus ou moins nombreux et plus ou moins importants, ce qui augmentera également le déficit circulatoire.

Les cellules cibles responsables des radiolésions au niveau du système vasculaire de la peau ont un temps de renouvellement long; ainsi les lésions n'apparaîtront que lentement. Elles affecteront les capillaires, les artérioles, moins fréquemment les artères et très rarement les veines. Les modifications initiales après 2 à 4 mois sont associées à des pertes de cellules endothéliales, qui vont provoquer une

prolifération anormale, conduisant à des occlusions des vaisseaux et à une réduction de la taille du lit capillaire. Les lésions plus tardives sont associées aux pertes des cellules musculaires lisses dans un délai plus ou moins variable.

Les conséquences de ce schéma chronologique dépendront des tissus, de leur physiologie et de leur possibilité d'adaptation: les lésions des parenchymes seront donc essentiellement différentes et n'apparaîtront que pour certaines doses et à des temps variables. L'extravasation du fibrinogène et le dépôt de fibrine extravasculaire qui en découle ne sont qu'indirectement responsables de la fibrose tardive, dans la mesure où ce phénomène accroît l'ischémie tissulaire, l'activation des fibroblastes et l'augmentation de la synthèse et du dépôt de collagène.

Le rôle primordial des lésions vasculaires, et particulièrement celles des capillaires dans la pathogénie des lésions tissulaires radio-induites, nous a conduit à en développer l'étude de façon particulière au niveau du tissu cutané et sous-cutané. En effet, les méthodes d'exploration atraumatiques sont nombreuses, mais en général ne donnent qu'en deuxième intention une indication sur le débit sanguin cutané, comme par exemple la thermographie, la conductivité thermique ou la mesure de pression partielle d'oxygène. Seules les mesures par laser Doppler peuvent donner une valeur précise, compte tenu de la qualité de l'étalonnage.

L'exploration isotopique avec des émetteurs γ , même de faible énergie, injectés dans la circulation sanguine, ne permet pas de caractériser la circulation superficielle, à cause de l'importante contribution des tissus profonds. L'utilisation d'émetteurs β purs, de préférence mono-énergétiques, pourrait permettre une autre approche: l'importance de la dégradation du spectre β , quantifiée par diverses méthodes d'analyse, est proportionnelle à l'épaisseur de l'écran, c'est-à-dire à l'épaisseur des couches de cellules du tissu cutané, entre la source et le détecteur. On peut donc espérer ainsi définir la profondeur à laquelle se trouve le lit vasculaire d'où est issu le rayonnement et caractériser les oedèmes, les stases et les mises hors circuit des anses capillaires.

Dans un modèle plus complexe, utilisant un fantôme composé de plusieurs couches d'équivalent tissu avec des couches actives placées à des profondeurs différentes, on pourra étudier la dégradation des spectres β issus d'une couche profonde et d'une couche superficielle, simulant respectivement les plexus vasculaires sous-dermiques et sous-papillaires.

Un essai de codification et de modélisation de cette technique est proposé dans ce travail, à partir du ^{32}P -phosphate administré par voie endoveineuse. Compte tenu de la répartition en énergie observée, et du découpage des spectres enregistrés après injection endoveineuse des radionucléides émetteurs β , il est apparu que:

- 1) la méthode de calcul basée sur l'énergie moyenne du spectre de ^{32}P , permet d'assimiler la peau à un écran simple de 3 à 4 mm d'épaisseur placé devant une "source unique" de ^{32}P , qui serait alors située au niveau de la vascularisation artério-veineuse sous-hypodermique;
- 2) la méthode de calcul basée sur la pouvoir d'arrêt d'un spectre de ^{32}P ou de ^{186}Re permet d'assimiler la peau à un écran simple de 76 ± 22 et 71 ± 11 mg/cm² respectivement, soit 0,7 mm, placé devant une "source unique" de ^{32}P ou de ^{186}Re , qui serait alors située au niveau des anastomoses artério-veinulaires situées dans le derme réticulaire;
- 3) la méthode du pouvoir d'arrêt appliquée aux droites de régression de Kurie, obtenues à partir des spectres de ^{32}P ou de ^{186}Re , donnent des résultats identiques avec des épaisseurs massiques de 61 ± 7 et 77 ± 5 mg/cm² respectivement, soit 0,6 à 0,8 mm;

4) la méthode originale que nous avons développée, de traitement mathématique des droites de régression de Kurie obtenues à partir des spectres de ^{32}P , permet d'assimiler la peau à une structure comportant deux régions complexes de vascularisation, situées à 25 - 77 mg/cm² et à 258 - 412 mg/cm², et comportant chacune plusieurs niveaux de vascularisation;

5) chacune de ces deux régions correspond à une réalité anatomique: lit microcapillaire sous-épidermique et derme réticulaire superficiel, et réseau vasculaire cutané et hypodermique, vérifiés par morphométrie en microscopie optique, sur coupes de tissus non fixés. Chacun de ces deux réseaux peut être sollicité plus ou moins intensément et indépendamment de l'autre après une irradiation β , suivant la dose et le délai;

6) une injection endoveineuse de 3,7 MBq de ^{32}P à un sujet de 50 - 60 kg environ était en-dessous des conditions optimales de mesures dans nos conditions expérimentales. Cette limite, qui nous a conduit à moyenniser les spectres avec l'effet de lissage inhérent à cet artifice, nous a empêché de définir le seuil de résolution de la méthode de traitement des droites de Kurie. Cependant, dans des conditions satisfaisantes de statistique de comptage, cette méthode d'analyse de régression multilinéaire pourrait être adaptée, avec des bibliothèques de spectres de référence adaptées, à la déconvolution de spectres émis par des mélanges de plusieurs radionucléides émetteurs β purs;

7) la similitude de résultats obtenus avec le ^{186}Re non colloïdal permettrait d'envisager celui-ci comme candidat à l'exploration isotopique du tissu cutané dans d'excellentes conditions de radioprotection;

8) l'activité injectée était néanmoins suffisante pour montrer que la courbe de charge était la combinaison d'une courbe croissante et décroissante de la forme $A = A_{\text{max}} (1 - e^{-bt})$; en effet la pente de la courbe décroissante est très lente et l'on peut considérer comme un plateau le niveau atteint par le taux de comptage 10 minutes après l'injection. Il a été ainsi possible de montrer une hyper-réactivité vasculaire à J+1 suivie d'une hypo-réactivité à 1, 2 et 3 semaines après irradiation β . Cette phase de latence était alors suivie par une réactivation aux 4ème et 5ème semaines pour les doses au moins égales à 48 Gy (sous 7 mg/cm²). Une analyse en composantes principales et une analyse de variance ont montré que dans presque tous les cas, la valeur du plateau à l'équilibre est corrélée à la dose d'irradiation et à l'aspect macroscopique de la peau irradiée. Par ailleurs, la contribution d'une irradiation γ , dans le cas d'une irradiation mixte [0,1 γ + 1 β] Gy a été démontrée;

9) compte tenu de la variabilité inter-individu, il est possible de comparer les spectres de deux zones anatomiques d'un même animal, mais il est interdit de comparer une même zone dans le temps ou de comparer plusieurs animaux entre-eux;

10) l'hyper-réactivité vasculaire à J+1 suivie de l'hypo-réactivité à J+7 a été par ailleurs vérifiée en laser Doppler cutané, dans les mêmes conditions expérimentales d'irradiation.

VIII - REFERENCES

- Adamson I.Y.R., Bowden D.H., Wyatt J.P.- A pathway to pulmonary fibrosis: an ultrastructural study of mouse and rat following radiation to the whole body and hemithorax. *Am. J. Pathol.*, 58, 3, 481-498, 1970.
- Amols H.I., et al. - Acute radiation effects on cutaneous microvasculature: evaluation with laser doppler perfusion monitor. *Radiology*, 169, 557-560. 1988.
- Archambault M., Yaar M., Gilchrest B.A.- Keratinocytes and fibroblasts in a human skin equivalent model enhance melanocyte survival and melanin synthesis after ultraviolet irradiation. *J. Invest. Dermatol.*, 104, 859-867, 1995.
- Atilas L. et al. - Laser Doppler flowmetry in burns wounds. *J. Burn Care Rehabil.*, 16, 388-393, 1995.
- Baptist A.M., Gongora G., Jammet H., Philibert M.- Les radiolésions aiguës de la main: intérêt de l'exploration vasculaire radioisotopique. *Arch. Mal. Prof. Méd. Trav.*, 8, 579-583, 1983.
- Barabanova A., Osanov D.P.- The dependence of skin lesions on the depth-dose distribution from β -irradiation of people in the chernobyl nuclear power plant accident. *Int. J. Radiat. Biol.*, 57, 4, 775-782, 1990.
- Bargeton D., Durand J.- Circulation dans le système vasculaire à basse pression. In C. Kayser, *Physiologie*, tome III, chap. 3, 589-601. Ed. Médicale Flammarion, Paris 1963.
- Barrett A.H., Myers P.C.- Microwave thermography, a method of detecting subsurface thermal patterns thermography. In "Proceedings of the 1st European Congress", Amsterdam, 1974, *Bibliotheca Radiologica*, 6, 45-56, 1975.
- Belcher E.H., Vetter H. Eds, Chap. 20, *Studies of Peripheral Circulation*, Butterworths, 1971.
- Blanc D., Ambrosino G.- *Eléments de Physique Nucléaire*. Masson, Paris, 1960.
- Borak J.- The radiation biology of the cutaneous glands. *Radiology*, 27, 651-655, 1936.
- Borak J.- Radiation effects on blood vessels. Part I, erythema, edema, 481-492. Part II, inflammation, degeneration, suppression of growth capacity, retrogression, necrosis, 607-617. Part III, telangiectasy, effect on lymph vessels, 718-727. *Radiology*, 38, 1942.
- Bosniak M.A., Hardy M.A., Quint J., Ghossein N.A.- Demonstration of the effect of irradiation on canine bowell using *in vivo* photographic magnification angiography. *Radiology*, 93, 1361-1368, 1969.
- Brown J.B., McDowell F.- In "Skin Grafting", 3rd edition p. 298. J.B. Lippincott Co, Philidelphia 1958.
- Cabanne F., Bonenfant J.L.- *Anatomie Pathologique*, chap.V, 115-151. Maloine, Paris, 1980.
- Brumen V., Horvat D., Bonic I.- Evaluation of serial application of capillaroscopy, photoplethysmography, and dermothrometry in diagnosis and prevention of radiolesions of peripheral microvessels. *Microvasc. Res.*, 47, 270-278, 1994.
- Cassette P.- SPEBETA: programme de calcul du spectre en énergie des électrons émis par des radionucléides émetteurs beta. Note technique DAMRI-LPRI/92/307/juillet, 1992.
- Crawley J.C.W., Veal N.- Dynamic studies with radioisotopes in medicine. *Proceed. Symp. Rotterdam*, 31/8-4/9 1970, IAEA 1971.
- Daburon F., Lefaix J.L., Rémy J., Fayart G., Dittmar A., Leroy Y., Haag J.- Mesures thermographiques après une irradiation aiguë localisée chez le porc. Rapport DPS 84-02, CEA-IPSN, CEN-FAR, BP 6, 92265 Fontenay aux Roses Cedex, 1984.
- Daburon F., Lefaix J.L., Remy J., Martin M., Bolnot D., Guilbaud J., Verola O.- Evolution des lésions après une irradiation aiguë localisée chez le porc. Essais de traitement médical et chirurgical. Rapport CEA-IPSN-DPS-84-05, 1984.

- Daburon F., Lefaix J.L., Remy J., Fayart G., Tricaud Y.- Intérêt et limites des mesures thermographiques microondes pour le diagnostic et le pronostic des irradiations aiguës localisées chez le porc. *Radioprotection*, 20, 207-225, 1985.
- Daburon F., Lefaix J.L., Laval M., Martin J.L., Le Bas J.F., Waksman B.- Intérêt de la tomographie X et RMN pour le diagnostic précoce des irradiations aiguës localisées. Etude expérimentale chez le porc. *J. Biophys. Biomeca.*, 10, 89-92, 1986.
- Dittmar A., Marichy J., Delhomme G., Gripari J.L.- Conductance et conductivité thermiques cutanées. Résultats *in vitro* et *in vivo*. "8ème Séminaire de téléthermographie", Lyon 1980.
- Dittmar A., Delhomme G., Vernet-Maury E., Pauchard T.- Estimation of skin blood flow from measurement of thermal conductivity. *ITBM*, 12, suppl. 1, 121-137, 1991.
- Dittmar A., Marichy J., Delhomme G., Gripari J.L.- Conductance et conductivité thermiques cutanées. Résultats *in vitro* et *in vivo*. "8ème Séminaire de téléthermographie", Lyon 1980.
- Dunn M.M., Drab E.A., Rubin D.B.- The effect of irradiation on endothelial cell-polymorphonuclear leucocyte interaction. *J. Applied Physiol.*, 60, 1932-1937, 1986.
- Dvorak H.F., Senger D.R., Dvorak A.M., Harvey V.S., McDonagh J.- Regulation of extravascular coagulation by microvascular permeability. *Science*, 227, 1059-1061, 1985.
- Edelson R., Fink J.- Le rôle immunitaire de la peau. *Pour la Science*, 94, 59-67, 1985.
- Edrich J., Hardee P.C.- Microwave radiometric detection and location of breast cancer. *Proc. IEEE*, 62, 1391-1392, 1963.
- Evans R.D.- Le noyau atomique, traduit par A. Bussière, C. Stephan et J. Vernotte; chapitre 17, *Spectroscopie β* , p. 585-620, Dunod, Paris 1961.
- Fajardo L.F., Stewart J.R.- Capillary injury preceding radiation-induced myocardial fibrosis. *Radiology*, 101, 429-433, 1971.
- Fajardo L.F., Berthrong M.- Radiation injury in surgical pathology. III, Salivary glands, pancreas and skin. *Am. J. Surg. Pathol.*, 5, 279-296, 1981.
- Flüry-Herard A.- Intérêt de la téléthermographie et de la scintigraphie vasculaire pour le diagnostic et le pronostic des surexpositions aiguës des mains. *Rapport DPS 86/01-SEAPS*, 1986.
- Fermi E.- *Z. Physik*, 88, 161, 1934.
- Fuster V., Chesebro J.H.- Antithrombotic therapy, role of platelet inhibitor drugs. I- Current concepts of thrombogenesis: role of platelets. *Mayo Clin. Proc.*, 56, 102-112, 1981.
- Gassmann A.- Zur Histologie der Röntgenulcera. *Fortschr. Roentgenstr.*, 2, 199-207, 1899.
- Glastein E.- Alterations in rubidium-86 extraction in normal mouse tissues after irradiation. *Radiat. Res.*, 53, 88-101, 1973.
- Gongora G., Strambi E., Perdereau B., Le Gal M., Tormenta S.- Thermographie et irradiation partielle aiguë. *Arch. Scienze Lav.*, 5, 41-58, 1989.
- Gripari J.L.- Evaluation de l'irrigation sanguine cutanée par la conductivité thermique. Thèse Doctorat en Médecine. Université Claude Bernard Lyon 1, 1981.
- Guiraud R., Regis H., Vergnes R.- Débits sanguins locaux. In "Traité de Médecine Nucléaire", G. Meyniel Ed., Tome 2, Chap. 8, Flammarion 1975.
- Holloway G.A., Watkins D.W.. Laser Doppler measurements of cutaneous blood flow. *J. Invest. Dermatol.*, 69, 306-

309, 1977.

Hopewell J.W.- The late vascular effects of radiation. *Brit. J. Radiol.*, 47, 157-158, 1974.

Hopewell J.W., Foster J.L., Gunn Y., Moustafa H.F., Patterson T.J.S., Wiernik G., Young C.M.A.- Role of vascular damage in the development of late radiation effects in the skin. In "Late biological effects of ionizing radiation", *Proceed. Symp. Vienna, 13-17 March 1978, vol. 1, 483-491, AIEA, Vienne 1978.*

Hopewell J.W.- The importance of vascular damage in the development of late radiation effects in normal tissues. In *Radiation Biology in Cancer Research. ED. by R.E. Meyn et H.R. Withers (Raven Press, New York), 449-459, 1980.*

Hopewell J.W., Young C.M.A.- The effects of field size on the reaction of pig skin to single doses of X-rays. *Br. J. Radiol.*, 55, 356-361, 1982.

Hopewell J.W.- Effects of radiation on the skin. *Radiological Protection Bulletin (NRPB)*, 62, 16-24, 1985.

Hopewell J.W.- Late occurring lesions in the skin of rats after repeated doses of X-rays. *Int. J. Rad. Biol.*, 48, 329-335, 1985.

Hopewell J.W.- Mechanisms of action of radiation on skin and underlying tissues. *Br. J. Radiol.*, suppl. 19, 39-47, 1986.

Hopewell J.W.- The skin: its structure and response to ionizing radiation. *Int. J. Rad. Biol.*, 57, 751-773, 1990.

Horn N.L., Thompson M., Howes A.A.E., Brown J.M., Kallman R.F., Probert J.L.- Acute and chronic effects of X-irradiation on blood flow in the mouse limb. *Radiology*, 113, 713-722, 1974.

Hurley J.V., Ham K.N., Ryan G.B.- The mechanism of the delayed response to X-irradiation of the skin of hairless mice and of rats. *Pathology*, 1, 3-18, 1969.

Ippolito F., Di Carlo A.- La termografia con tecnica di termostimolazione nello studio del microcircolo cutaneo. *Atti I Conv. Naz. AIDNID, 17-20, S. Giovanni Rotondo. L'Anchored ed. , Napoli, 1992.*

Jammet H., Gongora R.- Radiolésions aiguës localisées: intérêt de la dosimétrie physique et biologique; étude clinique. In "Il sistema tegumentario e le radiazioni ionizzanti (E. Strambi Ed.), Roma: Arti Grafiche F. Santarelli, 9-39, 1981.

Jellinek S.- Proliferation of elastic fibres after X-irradiation. *Lancet*, 2, 1192-1193, 1962.

Jolles B., Harrison R.G.- Proteases and the depletion and restoration of skin responsiveness to radiation. *Nature*, 205, 920-921, 1965.

Jolles B., Harrison R.G.- Enzymic processes and vascular changes in the skin radiation reaction. *Brit. J. Radiol.*, 39, 12-18, 1966.

Karasek M.A., Hillman K., Hillman K.E., Mansbridge J.N.- Mechanisms of ischemic damage to skin microvasculature, 1992 SID Abstracts n°183, *J. invest. dermatol.*, 98, 4, 582, 1992.

Keyeux A., Dunjic A., Royer E., Jovanovic D., Van de Merckt J.- Late functional and circulatory changes in rats after local irradiation. *Int. J. Radiat. Biol.*, 20, 7-25, 1971.

Klemp P., Bojsen J.- Local variation in cutaneous and subcutaneous blood flow measured by CdTe(CI) minidetectors in normal and psoriatic skin. *J. Invest. Dermatol.*, 86, 109-114, 1986.

Konopinsky E.J.- The theory of beta radioactivity, Oxford, 1966.

Köteles G.J., Lelik F., Sztanyik L.B.- Thermographic diagnosis of radiation injury. *Thermology*, 2, 584-586, 1987.

Krishnan E.C., Krishnan L., Jewell B., Bhatia P., Jewell W.R.- Dose-dependent radiation effect on microvasculature and repair. *JNCI*, 79, 6, 1321-1325, 1987.

- Krishnan L., Krishnan E.C., Jewell W.R.- Immediate effect of irradiation on microvasculature. *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.*, 15, 1, 147-150, 1988.
- Lagoutine F., Coursol N., Legrand J.- *Table des Radionucléides*. LMRI-CEA, 1982-1987.
- Lassen N.A.- *Radioisotopes in Medical Diagnosis*.
- Law M.P., Thomlinson R.H.- Vascular permeability in the ears of rats after X-irradiation. *Brit. J. Radiol.*, 51, 895-904, 1978.
- Law M.P. - Radiation-induced vascular injury and its relation to late effects in normal tissues. *Advances in Radiation Biology*, vol. 9, pp. 37-73, 1981.
- Lefaix J.L., Verola O., Daburon F., Brochériou C.- Les lésions cutanées et musculaires après irradiation aiguë chez le porc. *Ann. Pathol.*, 5, 249-258, 1985.
- Lefaix J.L., Martin M., Tricaud Y., Daburon F.- Muscular fibrosis induced after pig skin irradiation with single doses of 192 Ir gamma rays. *Brit. J. Radiol.*, 66, 537-544, 1993.
- Leroy Y.- Microwave radiometry and thermography: present and prospective. In "Biomedical Thermology". Eds M. Gautherie and E. Albert, New York: Alan R. Liss, 1982, pp. 485-499, 1982.
- Lindop P.J., Jones A., Bakowska A.- The effect of 14-Mev electrons on the blood vessels of the mouse earlob. *Proceedings of the NCI/AEC Carmel Symposium, BNL 50203 (C-57)*, p. 174-180, California, 1969.
- Lloyd R.A.- Application of the Kurie plot to the standardization of pure beta-emitters. *Nature*, 4615, 1055-1056, 1958.
- Maisin J.R.- The influence of radiation on blood vessels and circulation. Ultra-structure of the vessel wall. In *Current Topics in Radiation Research Quarterly*. 10, 29-57, 1974.
- Maisin J.R., Reyners H., Gianfelici de Reyners E. - Changes in the ultrastructure and the permeability of the capillaries after irradiation. In "Recent Advances in Basic Microcirculatory Research", Part I, 311-314, 1976.
- Malik A.B., Lynch J.J., Cooper J.A.- Endothelial barrier function. *J. Invest. Dermatol.*, 93, 62S-67S, 1989.
- Mammouni A., Dehour P., Bocquet B., Van De Velde J.C., Leroy Y.- Computation of three-dimensional radiometric signals detected in microwave imaging. "Advances in Medical Microwave Imaging", Université des Sciences et Techniques, Lille 17 nov. 1989.
- Martin J.F., Feroldi J., Cabanne F.- L'endartérite lipidique post-radiumthérapique des épithéliomas du col et du corps de l'utérus. *Bull. Ass. Franc. Cancer*, 41, 95-110, 1954.
- Martineaud J.P., Seroussi S.- *Physiologie de la circulation cutanée*, Masson, Paris, 1977.
- Maurel A. et al.- Flux microcirculatoire cutané étudié par laser doppler. *Presse Méd.*, 20, 1205-1209, 1991.
- Meyerhof W. E.- *Éléments de physique nucléaire*, traduit par B. Vignon; chapitre 4, désintégration radioactive, 4.6 désintégration β , p. 159-180, Dunod, Paris 1970.
- Monteiro-Rivière N.A., Bristol D.G., Manning T.O., Rogers R.A., Rivière J.E.- Interspecies and interregional analysis of the comparative histologic thickness and laser Doppler blood flow measurements at five cutaneous sites in nine species. *J. Invest. Dermat.*, 95, 582-586, 1990.
- Moussard A.M.- Sur 6 observations de radiolésions cutanées d'origine thérapeutique traitées par chirurgie plastique. *Thèse Faculté de Médecine de Paris*, 1963.
- Moustafa H.F., Hopewell J.W.- Late functional changes in the vasculature of the rat brain after local X-irradiation. *Brit. J. Radiol.*, 53, 21-25, 1980.
- Pages L., Bertel E., Joffre H., Sklavenitis L.- Pertes d'énergie, parcours et rendement de freinage pour les électrons de

10 keV à 100 MeV dans les éléments simples et quelques composés chimiques. Rapport CEA R 3942, CEN Saclay 1970.

Peel D.M., Hopewell J.W.- Non stochastic effects of different energy beta emitters in pig skin. *Radiat. Res.*, 99, 372-382, 1984.

Peel D.M., Hopewell J.W., Wells J., Charles M.W.- Late non-stochastic changes in pig skin after beta irradiation. *Rad. Research*, 101, 491-496, 1985.

Pennarola R.- Capillary microscopy as preventive medicine in subjects exposed to ionizing radiation. In "Radiation Damage to Skin", *Brit. J. Radiol.*, suppl. 19, 86-88, 1986.

Phillips T.L.- An ultrastructural study of the development of radiation injury in the lung. *Radiology*, 87, 49-54, 1966.

Phillips T.L., Benak S., Ross G.- Ultrastructural and cellular effects of ionizing radiation. In "Front. Radiation Ther. Onc.", 6, 21-43, Karger Basel and University Park Press, Baltimore, 1972.

Reinhold H.S., Buisman G.H.- Radiosensitivity of capillary endothelium. *British J. Radiol.*, 46, 53-57, 1973.

Reinhold H.S.- Cell viability of the vessel wall. In "Current Topics in Radiation Research Quarterly", 10, 9-28, 1974.

Reinhold H.S., Keyeux A., Dunjic A., Jovanovic D., Maisin J.R.- The influence of radiation on blood vessels and circulation. Chap. XII, Discussion and conclusions. In "Current Topics in Radiation Research Quarterly", 10, 185-198, 1974.

Reinhold, H.S., Hopewell J.W., Calvo W., Keyeux A., Reyners H.- Vasculoconnective Tissue, in "Radiopathology of Organs and Tissues", chap. 8, E. Scherrer, C. Streffer and K.R. Trott Ed., Springer Verlag, Berlin, 1991.

Rosen E.M., Goldberg I.D., Myrick K.V., Levenson S.E.- Radiation survival of vascular smooth muscle cells as a function of age. *Int. J. Radiat. Biol.*, 48, 71-79, 1985.

Roswit B., Wisham L.H., Sorrentino J.- The circulation of damaged skin. *American J. of Roentgenology*, 80, 980-990, 1953.

Rubin D.B., Casarett G.W.- *Clinical Radiation Pathology*. (Saunders, Philadelphia), 1968.

Rubin P.- The Franz Buschke lecture: late effects of chemotherapy and radiation therapy: a new hypothesis. *Int. J. Radiation Oncology Biol. Phys.*, 10, 5-34, 1984.

Rubin D.B., Drab E.A., Ward W.F., Smith L.J., Fowell S.M.- Enzymatic responses to radiation in cultured vascular endothelial and smooth muscle cells. *Radiation Research*, 99, 420-432, 1984.

Rubin D.B., Drab E.A., Tsao C.H., Gardner D., Ward W.F.- Prostacyclin synthesis in irradiated endothelial cells cultured from bovine aorta. *J. Applied Physiol.*, 58, 592-597, 1985.

Rubin D.B., Drab E.A., Ward W.F., Bauer K.D.- Cell cycle changes in cultures of bovine aortic irradiated endothelial cells. *Radiat. Res.*, 108, 206-214, 1986.

Rubin D.B., Drab E.A., Ward W.F., Bauer K.D.- Cell progression in irradiated endothelial cells cultured from bovine aorta. *Radiat. Res.*, 116, 364-371, 1988.

Rubin D.B., Drab E.A., Bauer K.D.- Endothelial cell subpopulations in vitro: cell volume, cell cycle and radiosensitivity. *J. Applied Physiol.*, 67, 1585-1590, 1989.

Rubin D.B., Drab E.A., Ward W.F.- Physiological and biochemical markers of the endothelial cell response to irradiation. *Int. J. Radiat. Biol.*, 60, 1/2, 29-32, 1991.

de Ruiter J., van Putten L.M.- Measurement of blood flow in the mouse tail after irradiation. *Radiat. Res.*, 61, 627-638, 1975.

- Ryan T.J.- Structure and function of lymphatics. *J. Invest. Dermatol.*, 93, 18s-24s, 1989.
- Sams A.- Histological changes in the larger blood vessels of the hind limb of the mouse after X-irradiation. *Int. J. Rad. Biol.*, 9, 2, 167-174, 1965.
- Schwint A.E., Itoiz M.E., Cabrini R.L.- A quantitative histochemical study of the microvasculature of irradiated skin. *Cell. Mol. Biol.*, 36, 253-264, 1990.
- Sejrsen P.- Blood flow in cutaneous tissue in man studied by washout of xenon 133. *Circulat. Res.*, 25, 215, 1969.
- Sejrsen P.- measurement of cutaneous blood flow by freely diffusible radioactive isotopes. *Dan. med. Bull.*, 18, suppl. III, 1971.
- Serup J. - Prescription for a bioengineering study : Strategy, standards and definitions. In "Handbook of non-invasive methods and the skin", J.Serup and G.B.E. Jemec Eds, CRC Press, Boca Raton, Chap 2-1, 1995.
- Sheehan J.F.- Foam cell plaques in the intima of irradiated small arteries. *Arch. Path. (Chicago)*, 37, 297-308, 1944.
- Spector W.S. (Editor)- Handbook of biological data, p.283. W.B. Saunders Cy, Philadelphia, 1956.
- Stone A.M., Rubin D.B., Drab E.A.- Increased transendothelial movement of albumen and sucrose is a direct effect of gamma irradiation in vitro. *Federation Proceedings*, 46, 418, 1987.
- Swain I.D., Grant L.J.- Methods of measuring skin flow. *Phys. Med. Biol.*, 34, 151-175, 1989.
- Takahashi M., Kallman R.F.- Quantitative estimation of histological changes in subcutaneous vasculature of the mouse after X-irradiation. *Int. J. Rad. Oncol. Biol. Phys.*, 2, 61-68, 1977.
- Tannock I.F., Hayashi S.- The proliferation of capillary endothelial cell. *Cancer Res.*, 32, 77-82, 1972.
- Texier C. Localisation en profondeur du radionucléide phosphore-32 injecté chez le porc au moyen d'un spectromètre à NaI. *BTS de Radioprotection, INSTN*, 13108 Saint Paul les Durance, 1994.
- Tsuya A., Wakano Y., Otake M.- capillary microscopic observation on the superficial minute vessels of atomic bomb survivors, 1956-1957. *Radiat. Res.*, 46, 199-216, 1971.
- United States National Bureau of Standards. Tables for analysis of β spectra, NBS Applied Mathematics Series 13, 1952.
- Vernet-Maury E., Deschaumes-Molinario C., Delhomme G., Dittmar A.- The relation between bioelectrical and thermovascular skin parameters. *Innov. Tech. Biol. Med.*, 12, n° special 1, 1991.
- Weather P.R., Burkitt H.G., Daniels V.G. - Histologie fonctionnelle. Manuel et atlas, Ed. Medsi, Paris, 1979.
- Wiedeman M.P., Tuma R.F., Mayrovitz H.N.- An introduction to microcirculation. Academic Press, New York, 1981.
- Windholz -Zum Kenntnis der Blutgefäßveränderungen im Röntgenbestrahlten Gewebe. *Strahlentherapie*, 59, 662-670, 1937.
- Wu C.S.- The shape of β spectra. In "a, β and γ Spectroscopy", K. Siegbahn Ed., p. 1365-1389. North Holland publishing Cy, Amsterdam 1974.
- Young C.M.A., Hopewell J.W.- The evaluation of an isotope clearance technique in the dermis of pig skin. A correlation of functional and morphological parameters. *Microvasc. Res.*, 20, 182-194, 1980.
- Young C.M.A., Hopewell J.W. - Surgical management of irradiated skin in the pig. *Brit. J. Radiol.*, suppl. 19, 125-128, 1986.
- Zollinger H.U.- Die Strahlenvasculopathie. *Pathol. Eur.*, 5, 145-163, 1970.