



Physiologie / Physiology

# Cinétique intracolloïdale de l'iode dans la thyroïde de rat nouveau-né. Imagerie directe par microscopie ionique analytique

Mouhamad Elbast<sup>a</sup>, Ting-Di Wu<sup>b</sup>, Françoise Guiraud-Vitoux<sup>a</sup>, Anne Petiet<sup>a</sup>,  
Elif Hindié<sup>a</sup>, Christophe Champion<sup>c</sup>, Alain Croisy<sup>b</sup>, Jean-Luc Guerquin-Kern<sup>b</sup>,  
Nicole Colas-Linhart<sup>a,\*</sup>

<sup>a</sup> Laboratoire de biophysique, faculté de médecine, université Paris-7-Denis-Diderot, BP 416, 75870 Paris cedex 18, France

<sup>b</sup> Inserm U759 et Institut Curie, laboratoire de microscopie ionique, bât. 112, 91405 Orsay, France

<sup>c</sup> Laboratoire de physique moléculaire et des collisions, institut de physique, université Paul-Verlaine, 1, boulevard Arago, 57078 Metz cedex 3, France

Reçu le 21 novembre 2006 ; accepté après révision le 10 octobre 2007

Disponible sur Internet le 26 novembre 2007

Présenté par Pierre Buser

## Résumé

La distribution spatio-temporelle à l'échelon cellulaire des dépôts d'énergie d'un radiotoxique est une donnée essentielle pour réaliser les études microdosimétriques. La répartition de l'iode au niveau des follicules thyroïdiens a été visualisée par autoradiographie dans les années 1950. Le but de cette étude a été d'observer la cinétique d'incorporation de l'iode à l'aide de la microscopie ionique analytique (NanoSIMS50) chez des rats nouveau-nés. Les images ioniques obtenues à haute résolution en masse et avec une résolution latérale de l'ordre de 50 nm montrent une répartition initiale de l'iode très hétérogène d'un follicule à l'autre, d'un thyrocyte à l'autre à l'intérieur d'un même follicule, son évolution étant variable au cours du temps. Ces résultats devraient permettre d'affiner les recherches étiopathogéniques des cancers de la thyroïde des enfants de Tchernobyl. *Pour citer cet article : M. Elbast et al., C. R. Biologies 331 (2008).*

© 2007 Publié par Elsevier Masson SAS pour l'Académie des sciences.

## Abstract

**Kinetics of intracolloidal iodine within the thyroid of newborn rats. Direct imagery using secondary ion mass spectrometry.** The spatiotemporal distribution of cellular uptake site of radiotoxics is essential data for microdosimetric studies. As early as 1950, the heterogeneity of iodine incorporation within the thyroid has been shown using autoradiography. The objective of this study is to describe the kinetic cellular distribution of newly organified iodine in the thyroid of newborn rats using secondary ion mass microscopy (NanoSIMS50). Ionic images obtained at high mass resolution and with a lateral resolution of about 50 nm show that the early distribution of iodine is heterogeneous from one follicle to another, from one thyrocyte to another inside the same follicle, and that this distribution varies as a function of time. The obtained kinetic profile will allow us to refine the studies concerning the aetiopathology of thyroid cancers of the Chernobyl children. *To cite this article: M. Elbast et al., C. R. Biologies 331 (2008).*

© 2007 Publié par Elsevier Masson SAS pour l'Académie des sciences.

\* Auteur correspondant.

Adresse e-mail : [radiobioexp@aol.com](mailto:radiobioexp@aol.com) (N. Colas-Linhart).

*Mots-clés* : Follicule thyroïdien ; Thyrocyte ; Cinétique ; Iode ; NanoSIMS50

*Keywords*: Thyroid follicle; Thyrocyte; Iodine; Kinetic; NanoSIMS50

## Abridged English version

The spatiotemporal distribution of decay events of radiotoxics at the cellular level is essential data for microdosimetric studies. SIMS microscopy is a surface analytical technique based on mass microscopy and secondary ion emission. The main advantage of SIMS microscopy is the ability to make direct observations of the distribution of any element occurring at the surface of a sample, with no need for specific labelling with a fluorescent or radioactive probe. SIMS microscopy is a powerful technique for studying the distribution of elements in biological tissues at the cellular level. Although having provided important information on stable and radioactive iodine distribution within the thyroid in normal and disturbed circumstances, this technique has been considered a marginal method in biology because of its poor lateral resolution and the insufficient mass separation power of the early instruments. Indeed, the main difficulty with SIMS microscopy is signal specificity, which is highly dependent on mass resolution: the complexity of the organic matrix leads to the emission of a large number of ions that can interfere with the studied element.

The latest high-resolution dynamic SIMS device (NanoSims50<sup>TM</sup>) that we used in this work has both a very good transmission at high mass resolution, and a high lateral resolution ( $\leq 50$  nm). The emergence of thyroid cancer among the children exposed to radioiodine after the Chernobyl accident implies exhaustive information concerning the cellular contamination of their thyroid.

The objective of our study is to describe the kinetic cellular distribution of newly organified iodine in the immature thyroid using secondary ion mass microscopy (SIMS). The kinetic profile will allow us to propose an improved dynamic model for the dosimetric evaluation of the thyroid cells. To mimic a contamination by radioiodine, all pups (7 days old) received one subcutaneous injection of 0.2  $\mu\text{g}$  iodine 129 ( $^{129}\text{I}$ ). Pups were sacrificed by exsanguination, 1 h to 8 days after  $^{129}\text{I}$  administration. The distribution of intracolloid iodine was recorded and analysed using the ionic nanoprobe NanoSims50<sup>TM</sup>. Images reflecting the distribution of newly organified iodine ( $^{129}\text{I}$ ) and the already present iodine pool ( $^{127}\text{I}$ ) were performed. Topography was revealed using  $^{31}\text{P}$ , which associates both with DNA

in the cell's nucleus and phosphorylated cytoplasmic molecules, and  $^{32}\text{S}$ , which allows the identification of the thyrocolloid.

Our observations demonstrate that the distribution is varying as a function of time, and that the inter- and intrafollicular distribution of  $^{129}\text{I}$  is heterogeneous in the thyroid of newborn rats. Early images (1 to 8 h) show that  $^{129}\text{I}$  is mainly found at the periphery of the colloidal matter (ring distribution), close to the cells. A high degree of heterogeneity in the distribution of  $^{129}\text{I}$  within the ring was noted. Up to 7 days after administration,  $^{129}\text{I}$  is gradually found homogeneous in the entire colloidal matter.

SIMS microscopy allows us to obtain rapid high-resolution direct images of iodine distribution: its lateral resolution is 50 nm, contrasting with the 100  $\mu\text{m}$  of autoradiography, and no radiolysis or Wolff–Chaikof effect is to fear. The animal model was set up to mimic the conditions of contamination by radioiodines in Chernobyl and the relative contribution at the cellular level of iodine-131 and short-lived isotopes of iodine. The latter deliver main part of their activity within the time of maximum heterogeneity.

## 1. Introduction

La distribution spatio-temporelle à l'échelon cellulaire des dépôts d'énergie d'un radiotoxique est une donnée essentielle pour réaliser les études microdosimétriques. En effet, il est essentiel d'établir un modèle d'irradiation cellulaire, et c'est à ce niveau qu'il conviendra de réaliser les études dosimétriques.

Lors de l'accident de Tchernobyl, parmi les produits de fission de l'uranium 235, les radioisotopes de l'iode 132 ( $^{132}\text{I}$ ), 133 ( $^{133}\text{I}$ ), 134 ( $^{134}\text{I}$ ) et 135 ( $^{135}\text{I}$ ) ont été dispersés avec de fortes activités, simultanément à l'iode 131 ( $^{131}\text{I}$ ) [1]. L'une des conséquences majeures de la dispersion de ces radioisotopes a été une apparition précoce (4 ans après l'accident) et importante (augmentation de l'incidence d'un facteur 100) de cancers de la thyroïde chez les enfants d'Ukraine et de Biélorussie, âgés de 0 à 15 ans en 1986 [2–4]. Cependant, de nombreux auteurs avaient prédit, lors des premières études dosimétriques, une faible augmentation des cancers thyroïdiens avec un temps de latence de 8 à 10 ans [5]. Différents facteurs peuvent expliquer cette sous-estimation du risque : l'âge de l'exposition, la déficience en iode

qui existait dans les régions contaminées, le rôle des isotopes à vie courte et les hypothèses simplificatrices retenues pour les calculs dosimétriques initiaux [6–10]. En particulier, les radioisotopes de l'iode à demi-vie courte, négligés lors des premiers calculs dosimétriques, auraient, à dose égale, un risque cancérigène supérieur à celui de l' $^{131}\text{I}$  en raison d'un débit de dose plus élevé [11]. Par ailleurs, la captation de l'iode par la cellule thyroïdienne est un phénomène cinétique, et on peut supposer que les dépôts principaux d'énergie provenant des isotopes de l'iode à demi-vie très courte ne se produisent pas au même niveau que pour l' $^{131}\text{I}$ , de période plus longue. La détermination des sites cellulaires de distribution de l'iode et leurs variations au cours du temps reste donc le pré-requis essentiel pour évaluer la dose au thyrocyte.

Le but de nos travaux a été de décrire la cinétique de l'incorporation folliculaire de l'iode dans la thyroïde de rats nouveau-nés âgés de sept jours, à l'aide d'un microscope ionique : le NanoSIMS50<sup>TM</sup> (Cameca, Paris, France). Ces travaux permettront de proposer, dans un second temps, un modèle dosimétrique dynamique.

La distribution de l'iode au sein de la glande thyroïde est généralement évaluée de façon indirecte par autoradiographie classique [12] ou, plus récemment, par l'expression des protéines impliquées dans le transport de l'iode comme l'expression du symporteur (NIS) ou de la pendrine [13,14].

La microscopie ionique analytique permet de réaliser une observation directe de la distribution de n'importe quel élément stable ou radioactif se trouvant à la surface d'un échantillon, sans recours à un marquage spécifique par une sonde fluorescente ou radioactive. Le principe de base de la microscopie ionique analytique consiste à appliquer les principes de la spectrométrie de masse à l'analyse de surface d'un échantillon solide. Cette technique de microanalyse a d'abord été utilisée pour l'étude de matériaux inertes, puis, depuis une trentaine d'années, elle est utilisée pour étudier la distribution d'éléments dans des tissus biologiques [15,16]. Bien que la microscopie ionique analytique ait fourni d'importantes informations, notamment sur la distribution de l'iode stable ou radioactif au sein de la thyroïde dans des conjonctures normales et pathologiques [17,18], celle-ci est considérée comme une méthode marginale en biologie. Ceci est dû à la faiblesse de la résolution latérale (1 à 0,5  $\mu\text{m}$ ) et à la faible résolution en masse des premiers instruments [19]. En effet, la principale difficulté de la microscopie ionique analytique est la spécificité du signal, qui est très dépendante de la résolution en masse : la complexité de la matrice organique conduit

Tableau 1

Résumé de l'expérimentation animale, avec  $T$  le temps entre l'administration de l' $^{129}\text{I}$  et le sacrifice,  $A$  l'âge au moment du sacrifice et  $N$  correspondant au nombre de rats nouveau-nés dans le groupe

Groupe	$T$	$A$	$N$
1	1 h	7	3
2	4 h	7	2
3	8 h	7	2
4	24 h	8	2
5	5 j	12	1
6	8 j	15	1

à l'émission d'un nombre important d'ions, qui peuvent interférer avec l'élément étudié.

Le NanoSIMS50 utilise une nouvelle nanosonde et une optique coaxiale. Ses principales caractéristiques sont une haute résolution latérale ( $\leq$  à 50 nm), sa capacité à analyser, dans le même micro volume, cinq masses (ions) en parallèle, une excellente transmission à haute résolution en masse, et une visualisation directe de l'échantillon dans la chambre d'ionisation, permettant la sélection des zones d'intérêt [20].

## 2. Matériels et méthodes

### 2.1. Animaux

L'étude a été menée sur 11 rats nouveau-nés Wistar, issus d'une même portée. Durant toute la durée de l'étude, les animaux ont été nourris par leur mère, elle-même sous alimentation standard comprenant 2 mg d'iode 127 par kilogramme d'aliment sec.

Afin de reproduire une contamination interne par des radioisotopes de l'iode, chaque rat nouveau-né a reçu, à l'âge de sept jours, une injection sous-cutanée de 0,2  $\mu\text{g}$  d'iode 129 ( $^{129}\text{I-Na}^+$ , NEN Life Science products, Boston MA, USA), sous un volume de 50  $\mu\text{l}$ . L'iode 129 a été choisi pour le différencier de l'iode natif (de masse 127).

L'expérimentation animale est résumée dans le **Tableau 1**. Brièvement, les rats nouveau-nés ont été sacrifiés par exsanguination de 1 h à 8 j après l'administration de l' $^{129}\text{I}$ .

Des « témoins d'âge » (soit des animaux sans « contamination »), provenant d'une autre portée, ont été sacrifiés aux âges de 7, 12 et 15 j.

### 2.2. Préparation des échantillons thyroïdiens

Immédiatement après sacrifice, les thyroïdes des animaux « contaminés » et des animaux témoins ont été prélevées et fixées par de la glutaraldéhyde à 2,5% en

tampon cacodylate, puis lavées, déshydratées dans des bains successifs d'éthanol, et enfin incluses dans une résine époxy. Cette technique standard d'inclusion préserve la localisation et les concentrations locales d'iode lié aux macromolécules (99% de l'iode intrathyroïdien) et convient à la détection des éléments par microscopie ionique analytique [17].

Dans un premier temps, une série de coupes de 1  $\mu\text{m}$  d'épaisseur a été réalisée, dans le but de repérer le tissu thyroïdien et d'éliminer le maximum de résine d'encrobage. Dans un second temps, des coupes de 0,5  $\mu\text{m}$  d'épaisseur et de surface d'environ 1  $\text{mm}^2$  ont été observées en microscopie optique, afin de pouvoir choisir les follicules à analyser. Les follicules sont sélectionnés parmi les follicules à colloïde, avec un diamètre folliculaire d'environ 20  $\mu\text{m}$  (champs d'analyse ionique) localisés dans la partie centrale de la glande. De deux à trois coupes ultrafines (épaisseur = 0,5  $\mu\text{m}$ ) ont été déposées sur un porte-échantillon en inox poli.

### 2.3. Analyse par le NanoSIMS50

Les échantillons ont été bombardés par un faisceau d'ions césium ( $\text{Cs}^+$ ). Des images ioniques correspondant au pool initial d'iode ( $^{127}\text{I}$ ) et à la distribution de l'iode nouvellement incorporé ( $^{129}\text{I}$ ) ont été enregistrées. L'architecture thyroïdienne a été visualisée par l'enregistrement de la distribution du phosphore 31 ( $^{31}\text{P}$ ), élément dont les acides désoxyribonucléiques et les molécules phosphorylées du cytoplasme sont particulièrement riches, ainsi que de celle du soufre 32 ( $^{32}\text{S}$ ), permettant de visualiser la lumière folliculaire (la thyroglobuline est très riche en  $^{32}\text{S}$ ). Dans le but de retrouver les follicules déterminés en microscopie optique, une acquisition rapide a été réalisée avec un champ d'analyse de 100  $\mu\text{m} \times 100 \mu\text{m}$ , bombardé par le faisceau  $\text{Cs}^+$  de 200 nm de diamètre, avec une intensité variant de 7 à 8 pA.

Les champs d'analyse ont été fixés entre 30  $\mu\text{m} \times 30 \mu\text{m}$  (un follicule analysé) et 80  $\mu\text{m} \times 80 \mu\text{m}$  (de deux à quatre follicules analysés), pour conserver à l'image finale la même qualité de résolution. Les follicules étant repérés, pour un champ de 30  $\mu\text{m} \times 30 \mu\text{m}$ , les échantillons ont été bombardés par un faisceau  $\text{Cs}^+$  de 100 nm de diamètre avec une intensité de l'ordre de 3 pA ; pour un champ de 80  $\mu\text{m} \times 80 \mu\text{m}$ , le diamètre du faisceau a été de 150 nm, avec une intensité de 5 pA.

Une étude préliminaire a montré que  $^{129}\text{I}$  était l'élément le plus difficilement détectable. L'établissement de la résolution en masse ( $M/\Delta M$ , avec  $M$  la masse étudiée et  $\Delta M$  la plus petite différence de masse qui peut être distinguée) a donc été basée pour cette étude sur

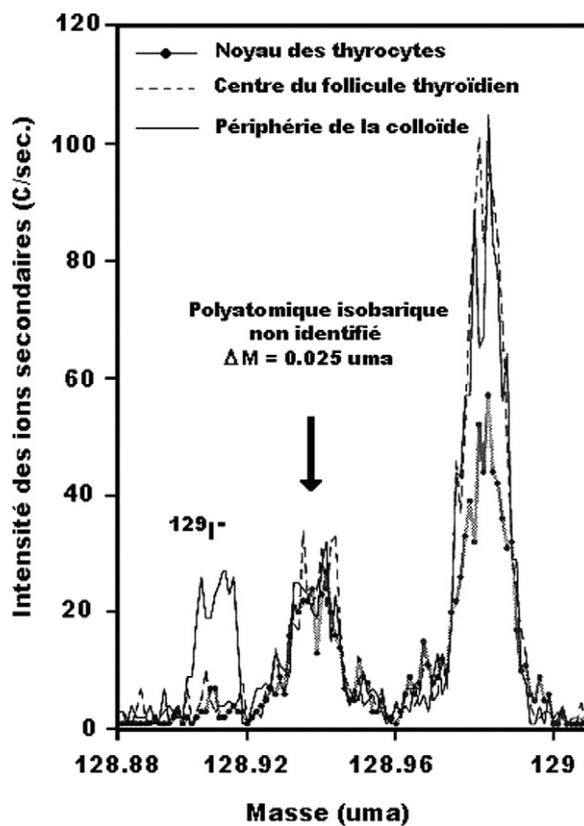


Fig. 1. Spectre en haute résolution de masse enregistré à la masse 129 sur plusieurs structures de la thyroïde de rats nouveau-nés « contaminés ».  $^{129}\text{I}$  n'a été retrouvé que dans la matière colloïdale à proximité des thyrocytes. Une résolution en masse de 4820 est nécessaire pour distinguer  $^{129}\text{I}$  d'un ion polyatomique de masse très proche.

la détection de  $^{129}\text{I}$ . En effet, entre les masses, 128,88 et 129, il existe beaucoup d'interférences, dont un polyatomique situé à un  $\Delta M$  de 0,025 uma (Fig. 1) de  $^{129}\text{I}$ . La résolution en masse pouvant séparer  $^{129}\text{I}$  de ce polyatomique isobare est de 4820. Tous les éléments ont donc été analysés avec une résolution de 4820.

Les images des thyroïdes des rats nouveau-nés « témoins d'âge » acquises dans les mêmes conditions expérimentales sont présentées sur la Fig. 2. Le signal détecté à la masse 129 correspond au bruit de fond aléatoire du détecteur.

### 3. Résultats

La Fig. 3A–F montre les images ioniques de la distribution folliculaire du  $^{31}\text{P}$ , de  $^{127}\text{I}$ , de  $^{129}\text{I}$  et du  $^{32}\text{S}$  à différents instants après l'administration de  $^{129}\text{I}$ .

À la masse 127, les images acquises montrent que, quel que soit l'âge de l'animal, la distribution colloïdale du pool d'iode initial est homogène.

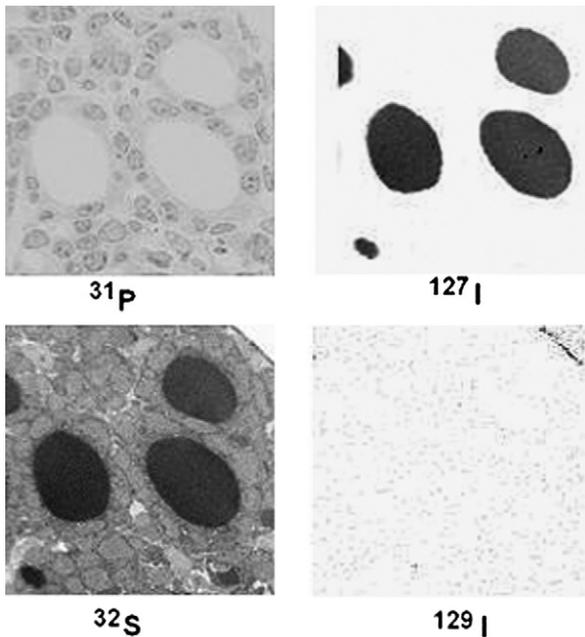


Fig. 2. Images ioniques de la thyroïde d'un rat nouveau-né contrôlé âgé de sept jours (champ =  $50 \times 50 \mu\text{m}$ ). Les quelques « grains » distribués au hasard sur l'image  $^{129}\text{I}$  sont dus au mouvement propre du détecteur. Toutes les images sont présentées en échelle inversée de gris (noir = signal important).

Cependant, la distribution de  $^{129}\text{I}$  nouvellement incorporé varie au cours du temps. En effet, sur les images ioniques obtenues précocement après la contamination (Fig. 3A et B),  $^{129}\text{I}$  est essentiellement distribué à la périphérie du colloïde : distribution en anneau.

Il existe aussi une importante hétérogénéité de la distribution intracolloïdale de  $^{129}\text{I}$  d'un follicule à l'autre, particulièrement chez les animaux sacrifiés 4 h après la « contamination », où sont observés quelques follicules avec une distribution homogène de  $^{129}\text{I}$  (Fig. 3B). Huit heures après, la distribution de  $^{129}\text{I}$  est homogène au sein de la matière colloïdale pour la plupart des follicules observés, quelques follicules présentant cependant encore une distribution hétérogène (Fig. 3C). De 1 à 8 jours après la « contamination », tous les follicules analysés présentent une distribution homogène de  $^{129}\text{I}$  au sein de leur colloïde (Fig. 3D–F).

Dans Fig. 4A, des pseudo-couleurs ont été utilisées pour superposer les images obtenues pour les ions  $^{31}\text{P}^-$  et  $^{129}\text{I}$ . Quatre heures après la contamination, les trois types de distribution sont visibles sur le même champ. La Fig. 4B représente la répartition de la quantité d' $^{129}\text{I}$  sur la surface colloïdale du follicule central. On observe qu'il existe une grande hétérogénéité fonctionnelle des thyrocytes au sein d'un même follicule.

#### 4. Discussion

Le NanoSIMS50<sup>TM</sup>, microscope ionique de dernière génération, nous a permis d'obtenir directement une cartographie cinétique de  $^{129}\text{I}$  « nouvellement incorporé » et de l'iode 127 ( $^{127}\text{I}$ ) déjà présent, au sein d'un follicule thyroïdien de rat nouveau-né. Cette technique de microanalyse présente de nombreux avantages par rapport aux techniques autoradiographiques et microradioautographiques. Les images ioniques sont rapidement obtenues, en quelques minutes, au lieu de plusieurs jours, voire plusieurs mois d'exposition en autoradiographie.  $^{127}\text{I}$  et le  $^{32}\text{S}$  présents en quantité importante dans les échantillons thyroïdiens sont acquis sur un temps de l'ordre de 5 ms par pixel. Pour  $^{129}\text{I}$  et le  $^{31}\text{P}$ , le temps est de 15 ms par pixel, soit un temps d'analyse global de 15 min. La résolution spatiale est de l'ordre de 50 nm, alors qu'elle est de 1 à 10  $\mu\text{m}$  en microautoradiographie et de l'ordre de 100  $\mu\text{m}$  en autoradiographie sur film. Dans une étude récente, le NanoSIMS50 a permis de visualiser la fixation de  $^{127}\text{I}$ -benzamide dans les grains de mélanine à l'intérieur de mélanocytes [21]. Par ailleurs, la possibilité d'utiliser des isotopes stables ou des radioisotopes à vie très longue à la place de sondes radioactives permet d'éviter les artefacts de radiolyse. Enfin, des mesures quantitatives sont facilement réalisables. La teneur en iode  $^{129}\text{I}$  au sein du colloïde est évaluée après une première séance d'acquisition séquentielle de  $^{127}\text{I}$ , puis de  $^{129}\text{I}$ , et à nouveau de  $^{127}\text{I}$ , permettant de confirmer la stabilité de l'émission des ions secondaires. Le rapport du taux d'émission de  $^{129}\text{I}$  sur le taux moyen d'émission de  $^{127}\text{I}$  peut être ainsi calculé.

Le modèle animal a été mis au point afin de reproduire les conditions d'une contamination interne et unique par des radioisotopes de l'iode. L'âge de contamination par  $^{129}\text{I}$  (7 j) a été choisi comme correspondant à l'âge des enfants d'Ukraine et de Biélorussie au moment de l'accident de Tchernobyl, chez qui un nombre important de cancers de la thyroïde a été diagnostiqué : 90% de ces enfants avaient moins de dix ans en 1986 et 80% avaient moins de cinq ans à l'époque [1]; quoiqu'une extrapolation directe à l'homme ne puisse être immédiate, la physiopathologie thyroïdienne du rat Wistar a été reconnue comme suffisamment proche de la physiologie humaine [22].

D'une part, le choix de  $^{129}\text{I}$  pour mimer une contamination permet, de discriminer l'iode nouvellement incorporé (masse 129) de l'iode stable intrathyroïdien déjà présent (masse 127); d'autre part, ce radioisotope de l'iode a une période physique très longue ( $T = 1,7 \times 10^7$  années), qui permet l'inclusion en résine des

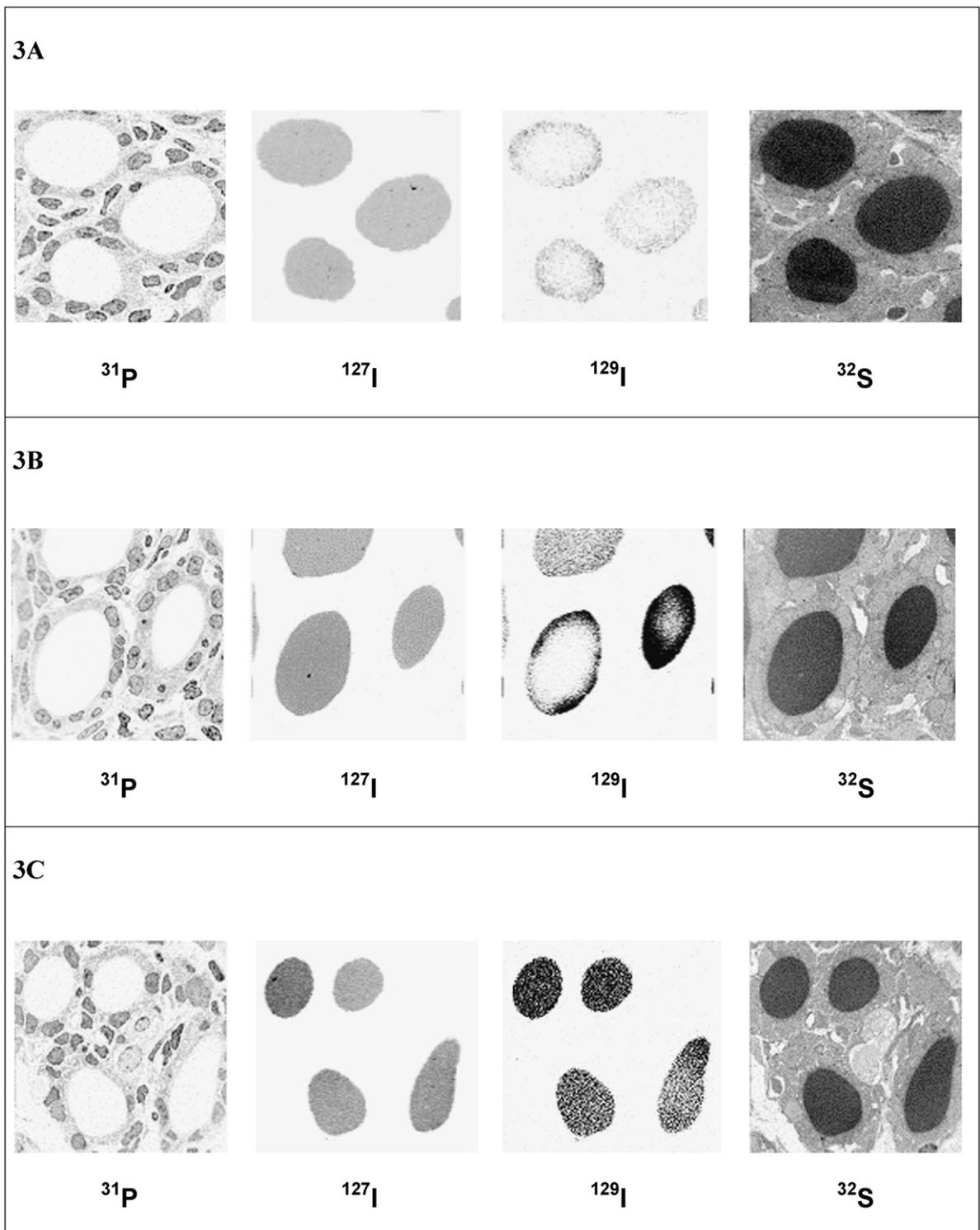


Fig. 3. Cinétique des images ioniques des thyroïdes des rats nouveau-nés « contaminés ». (A) Images obtenues 1 h après l'administration de l' $^{129}\text{I}$  (champ =  $45 \times 45 \mu\text{m}$ ). (B) Images obtenues 4 h après l'administration de l' $^{129}\text{I}$  (champ =  $50 \times 50 \mu\text{m}$ ). (C) Images obtenues 8 h après l'administration de l' $^{129}\text{I}$  (champ =  $50 \times 50 \mu\text{m}$ ).

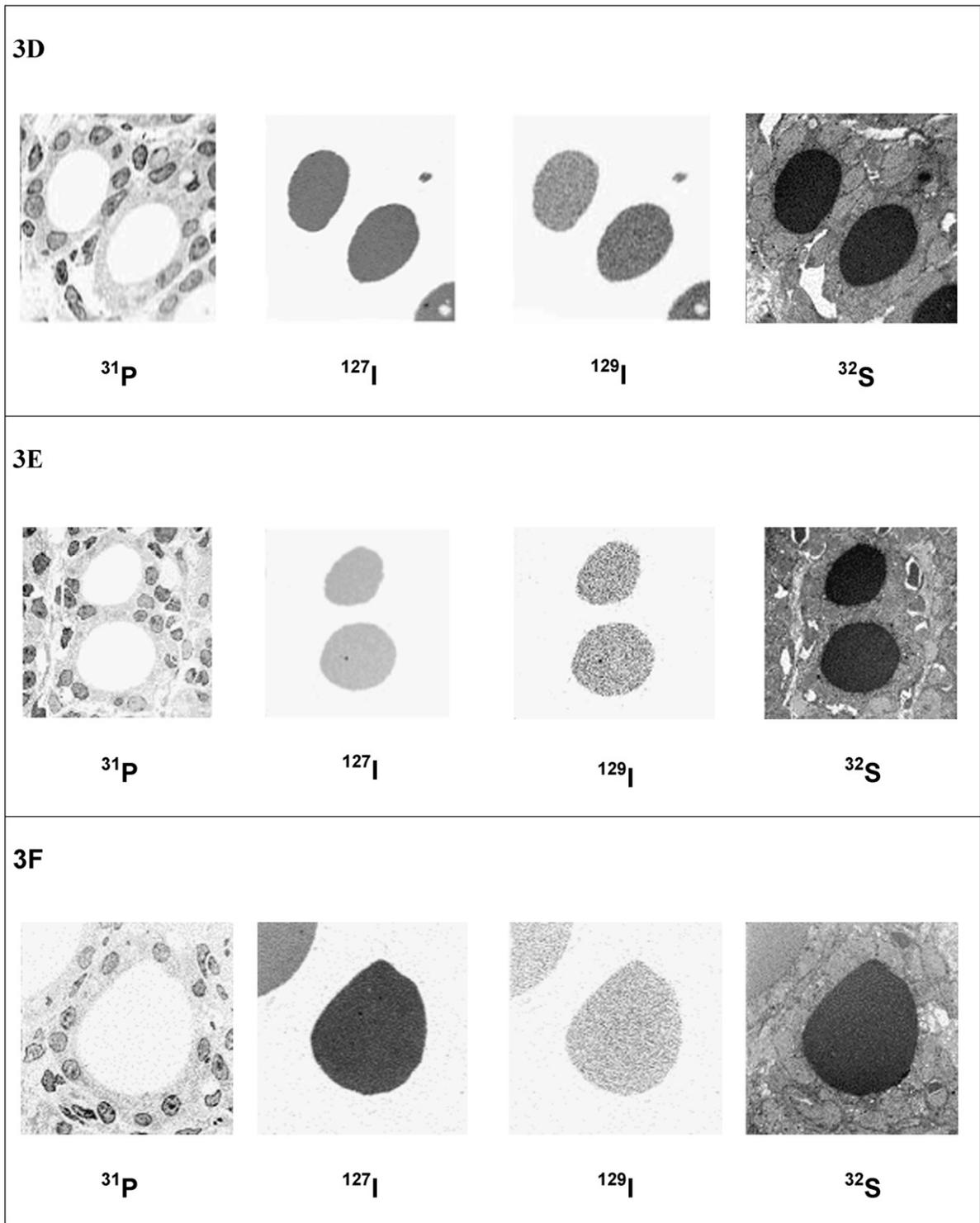


Fig. 3. (suite) Cinétique des images ioniques des thyroïdes des rats nouveau-nés «contaminés». (D) Images obtenues 24 h après l'administration de  $^{129}\text{I}$  (champ =  $40 \times 40 \mu\text{m}$ ). (E) Images obtenues 5 j après l'administration de  $^{129}\text{I}$  (champ =  $50 \times 50 \mu\text{m}$ ). (F) Images obtenues 8 j après l'administration de  $^{129}\text{I}$  (champ =  $45 \times 45 \mu\text{m}$ ). Toutes les images sont présentées en échelle inversée de gris (noir = signal important).

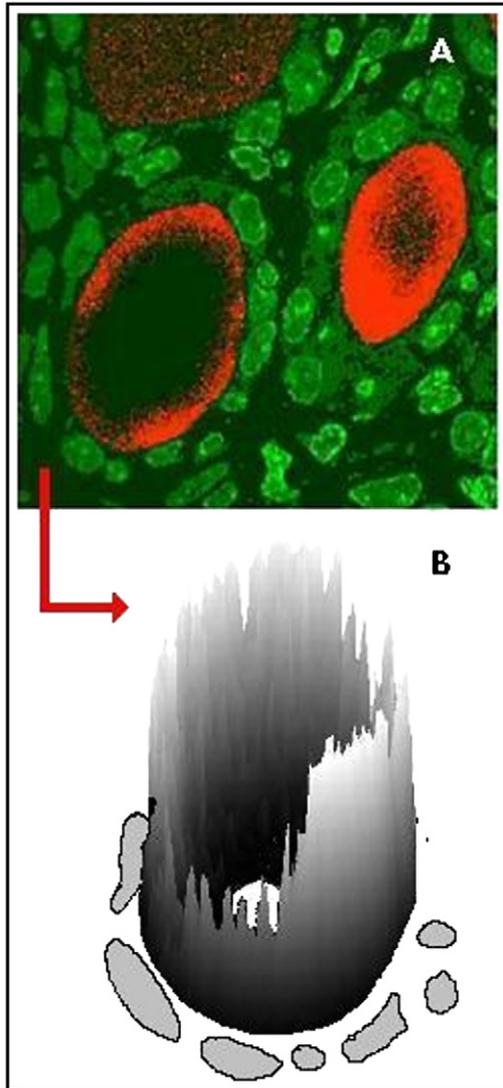


Fig. 4. (A) Image de follicule thyroïdien d'un rat nouveau-né, 4 h après la contamination, avec superposition de pseudo couleurs, vert pour le  $^{31}\text{P}$  (noyaux des thyrocytes) et rouge pour  $^{129}\text{I}$  (iode nouvellement organifié). (B) Représentation de la répartition de la quantité d' $^{129}\text{I}$  sur la surface colloïdale du follicule central (flèche rouge). Les noyaux des thyrocytes ont été dessinés pour mieux visualiser l'hétérogénéité de répartition de l'iode d'un thyrocyte à l'autre.

échantillons thyroïdiens, en excluant les problèmes de décroissance et de transformation du signal. Sa période physique permet aussi d'éviter les effets radiotoxiques sur la thyroïde du rat nouveau-né (l'activité administrée est de 1,2 Bq). Aucun signe de nécrose cellulaire n'a d'ailleurs été observé sur les coupes thyroïdiennes utilisées pour localiser les follicules à analyser.

La masse d' $^{129}\text{I}$  administrée, qui est de 0,2  $\mu\text{g}$  par rat nouveau-né, permet d'avoir une quantité totale d'iode incorporée dans la thyroïde de l'ordre de 20 ng, ce qui

permet, d'une part, un temps correct d'acquisition des images ioniques et d'autre part d'éviter l'effet Wolff–Chaikof. En effet, un apport important d'iode inhibe la fixation organique de l'iode [23]. En tenant compte du fait que les rates ingèrent de l'ordre de 30  $\mu\text{g}$  d'iode par jour [24], chaque rat nouveau-né provenant d'une portée de 10 individus en reçoit via l'allaitement approximativement 1  $\mu\text{g}$  par jour. La quantité d'iode administrée correspond donc à une augmentation de seulement 20% de l'apport alimentaire quotidien.

Les calculs dosimétriques initiaux évaluant la dose absorbée par la thyroïde après l'accident de Tchernobyl ont pris comme hypothèse une répartition homogène de l'iode au sein de la thyroïde : concentration au sein de la thyroïde des radioisotopes de l'iode identique d'un follicule à l'autre et distribution dans la matière colloïdale homogène. Or, depuis près de 50 ans, on sait que l'hétérogénéité est une caractéristique essentielle du tissu thyroïdien et la diversité de la capacité des thyrocytes à métaboliser l'iode avait déjà été démontrée par autoradiographie du tissu thyroïdien, aussi bien dans les expérimentations animales que dans les études chez l'homme [25,26]. De plus, la proportion de thyrocytes ayant de faibles capacités d'organifier l'iode augmente avec l'âge [27]. Beaucoup plus récemment, des études ont mis en évidence l'hétérogénéité de l'expression du NIS sur les thyrocytes, confirmant l'hétérogénéité fonctionnelle [28]. Dans une de nos précédentes études chez l'animal, nous avons observé que la distribution des lésions radioinduites par des activités thérapeutiques et/ou diagnostiques d' $^{131}\text{I}$  était hétérogène d'un thyrocyte à un autre, suggérant une incorporation hétérogène d'une cellule à une autre au sein d'un même follicule [29].

Nos résultats visualisent l'hétérogénéité de la distribution précoce de l'iode nouvellement incorporé dans le colloïde (distribution en anneau, par ailleurs hétérogène) et sa disparition dans les temps plus tardifs. Enfin, la dispersion des comportements fonctionnels entre follicules voisins a été mise aussi en évidence.

Les hypothèses d'homogénéité de l'iode, d'une part, d'un follicule à l'autre et, d'autre part, d'un thyrocyte à l'autre au sein d'un même follicule, prises dans l'évaluation de la dose à la thyroïde, sont donc simplifiées.

Les radioisotopes de l'iode à vie courte ont été impliqués dans l'augmentation des cancers thyroïdiens développés par les habitants des îles Marshall, exposés en 1954 aux retombées radioactives [30]. Une des hypothèses la plus généralement admise concerne l'efficacité biologique supérieure des iodures à vie courte par rapport à  $^{131}\text{I}$  : la dose délivrée à la thyroïde serait délivrée 10 fois plus vite par  $^{133}\text{I}$  que par  $^{131}\text{I}$  [11]. Des études récentes ont estimé à 30% la contribution globale des

iodes à demi-vie courte aux doses reçues à la thyroïde par les personnes évacuées de la région de Tchernobyl, à partir de mesures d'activité réalisées quatre jours après l'accident [9]. En 2004, Gravilin et al. évaluent la contribution des iodes à vie courte à la dose reçue à la thyroïde à plus de 20% dans le cas d'une contamination précoce [10]. Malgré les nombreuses études et données, les radioisotopes de l'iode à vie courte ont été négligés dans les calculs de dose initiaux et on continue à imputer au seul  $^{131}\text{I}$  l'augmentation des cancers de la thyroïde après Tchernobyl [31].

Dans le cas d'une contamination par un « mélange » de radioisotopes de l'iode, les sites cellulaires « irradiés » vont varier au cours du temps. La distribution moyenne des désintégrations d'un radioisotope de l'iode à vie courte, comme  $^{132}\text{I}$  ( $T_{1/2} = 2,3$  h) par exemple, va dépendre de la façon dont se distribue l'iode dans les premières heures de sa captation par la thyroïde, alors que la distribution moyenne des désintégrations pour  $^{131}\text{I}$  ( $T_{1/2} = 8,1$  j) va correspondre à la localisation de l'iode à un temps plus tardif au sein des follicules thyroïdiens.

En conclusion, nos observations suggèrent que, dans le cas d'une contamination interne par un mélange de radioisotopes de l'iode, l'essentiel de la dose sera délivré pendant la phase d'hétérogénéité intrafolliculaire maximale. Les modèles dosimétriques utilisés pour évaluer la dose à la thyroïde devraient être revus en tenant compte de l'hétérogénéité cinétique de la distribution de l'iode.

En perspective, plusieurs études avec le NanoSIMS50 sont actuellement en cours dans notre laboratoire afin de préciser l'importance quantitative de l'hétérogénéité inter- et intrafolliculaire grâce à des images ioniques « grand champ » et à des mesures d'abondance de l'iode 129. Les rôles de l'âge et du statut iodé dans la distribution thyroïdienne des iodes seront également précisés.

## Remerciements

Cette étude a fait l'objet d'un contrat n° RB 2005-09 accordé par EDF.

## Références

- [1] UNSCEAR 2000 Report, Effects of the Chernobyl Accident, Sources and Effects of Ionising Radiation, vol. II, United Nations, New York, 2000.
- [2] K. Baverstock, B. Egloff, A. Pinchera, C. Ruchti, D. Williams, Thyroid cancer after Chernobyl, *Nature* 359 (1992) 21–22.
- [3] Y. Shibata, S. Yamashita, W.B. Masyakin, G.D. Panasyuk, S. Nagataki, 15 years after Tchernobyl: new evidence of thyroid cancer, *Lancet* 358 (2001) 1965–1966.
- [4] W.F. Heidenreich, J. Kenigsberg, P. Jacob, E. Buglova, G. Goulko, H.G. Paretzke, E.D. Demidchik, A. Golovneva, Time trends of thyroid cancer incidence in Belarus after the Chernobyl accident, *Radiat. Res.* 151 (1999) 617–625.
- [5] E. Hindié, L. Leenhardt, F. Vitaux, N. Colas-Linhart, P. Grosclaude, P. Galle, A. Aurengo, B. Bok, Non-medical exposure to radioiodine and thyroid cancer, *Eur. J. Nucl. Med.* 29 (2002) S497–S512.
- [6] A.J. Alessandri, K.J. Goddard, G.K. Blair, C.J.H. Fryer, K.R. Schultz, Age is the major determinant of recurrence in pediatric differentiated thyroid carcinoma, *Med. Pediatr. Oncol.* 35 (2000) 41–46.
- [7] K. Ashizawa, Y. Shibata, S. Yamashita, H. Namba, M. Hoshi, N. Yokoyama, M. Izumi, S. Nagataki, Prevalence of goiter and urinary iodine excretion levels in children around Chernobyl, *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 82 (1997) 3430–3433.
- [8] J.P. Bleuer, Y.I. Averkin, T. Abelin, Chernobyl-related thyroid cancer: What evidence for short-lived iodines? *Environ. Health Perspect.* 105 (1997) 1483–1486.
- [9] M. Balonov, G. Kaidanovski, I. Zvonova, A. Kovtun, A. Bouville, N. Luckyanov, P. Voillequé, Contributions of short-lived radioiodines to thyroid doses received by evacuees from the Tchernobyl area estimated using early in vivo activity measurements, *Radiat. Prot. Dos.* 105 (2003) 593–599.
- [10] Y. Gavrilin, V. Khrouch, S. Shinkarev, V. Drozdovitch, V. Minkenko, E. Shemiakina, A. Ulanovsky, A. Bouville, L. Anspaugh, P. Voilleque, N. Luckyanov, Individual thyroid dose estimation for a case-control study of Chernobyl-related thyroid cancer among children of Belarus-part I:  $^{131}\text{I}$ , short-lived radioiodines ( $^{132}\text{I}$ ,  $^{133}\text{I}$ ,  $^{135}\text{I}$ ), and short-lived radiotelluriums ( $^{131\text{m}}\text{Te}$  and  $^{132}\text{Te}$ ), *Health Phys.* 86 (2004) 565–585.
- [11] B. Zanzonico, Age-dependent thyroid absorbed doses for radiobiologically significant radioisotopes of iodine, *Health Phys.* 78 (2000) 60–67.
- [12] G. Andros, S.B. Wollman, Autoradiographic localization of radioiodide in the thyroid gland of the mouse, *J. Physiol.* 213 (1967) 198–208.
- [13] A. Faggiano, J. Coulot, N. Bellon, M. Talbot, B. Caillou, M. Ricard, J.-L. Bidart, M. Schlumberger, Age-dependent variation of follicular size and expression of iodine transporters in human thyroid tissue, *J. Nucl. Med.* 45 (2004) 232–237.
- [14] C. Mian, L. Lacroix, L. Alzieu, M. Nocera, M. Talbot, J.-M. Bidart, M. Schumberger, B. Caillou, Sodium iodide symporter and pendrin expression in human thyroid tissues, *Thyroid* 11 (2001) 825–830.
- [15] P. Galle, La microscopie ionique analytique des tissus biologiques, *Ann. Phys.* 10 (1985) 287–305.
- [16] P. Fragu, C. Briançon, C. Fourré, J. Clerc, O. Casiraghi, J. Jeuset, F. Omri, S. Halpern, SIMS microscopy in the biomedical field, *Biol. Cell* 74 (1992) 5–18.
- [17] P. Fragu, C. Briançon, S. Halpern, E. Larras-Regard, Changes in iodine mapping in rat thyroid during the course of iodine deficiency: imaging and relative quantification by analytical ion spectrometry, *Biol. Cell* 65 (1988) 145–155.
- [18] P. Fragu, S. Halpern, C. Briançon, J.-C. Olivo, E. Kahn, Imagerie microscopique fonctionnelle de la glande thyroïde à l'aide de la microscopie ionique analytique, *Pathol. Biol.* 39 (1991) 1029–1037.
- [19] C. Fourré, A. Petiet, N. Colas-Linhart, Mutual contribution by “track” microradioautography method (MRA) and secondary ion mass spectrometry (SIMS) microscopy: Prospects in technetium

- dosimetry at the cellular level, *Cell. Mol. Biol.* 42 (1996) 385–393.
- [20] J.-L. Guerquin-Kern, T.D. Wu, C. Quintana, A. Croisy, Progress in analytical imaging of the cell by dynamic secondary ion mass spectrometry, *Biochim. Biophys. Acta* 1724 (2005) 228–238.
- [21] J.-L. Guerquin-Kern, J.-C. Hillion, J.-C. Madelmont, P. Labarre, J. Papon, A. Croisy, Ultra-structural cell distribution of the melanoma marker iodobenzamide: improved potentiality of SIMS imaging in life sciences, *Biomed. Eng. Online* 3 (2004) 1–7.
- [22] E. Vigouroux, Dynamic study of post-natal thyroid function in the rat, *Acta Endocrinol. (Copenh.)* 83 (1976) 752–762.
- [23] J.-L. Wemeau, Hypothyroidism related to excess iodine, *Presse Med.* 31 (2002) 1670–1675.
- [24] R.H. McCoy, Dietary requirement of the rat, in: E.J. Farris, J.Q. Griffith (Eds.), *The Rat in Laboratory Investigation*, second ed., JB Lippincott Company, London, 1942, pp. 68–103.
- [25] E. Triantaphyllidis, Hétérogénéité fonctionnelle de la glande thyroïde. I. Sécrétion de l'iode et hétérogénéité fonctionnelle de la glande, *Arch. Sci. Physiol.* 12 (1958) 191–227.
- [26] W.K. Sinclair, J.D. Abbatt, H.E. Farran, E.B. Harriss, L.F. Lammerton, A quantitative autoradiographic study of radioiodine distribution and dosage in human thyroid gland, *Brit. J. Radiol.* 337 (1956) 36–41.
- [27] J.-L. Sadoul, Genèse des nodules thyroïdiens, *Ann. Endocrinol.* 56 (1995) 5–22.
- [28] B. Caillou, F. Troalen, E. Baudin, M. Talbot, S. Filetti, M. Schlumberger, J.-M. Bidart,  $\text{Na}^+/\text{I}^-$  symporter distribution in human thyroid tissues: an immunohistochemical study, *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 83 (1998) 4102–4106.
- [29] F. Guiraud-Vitoux, G. Feldmann, N. Vadrot, S. Charles-Gupta, A.-M. Durand-Schneider, N. Colas-Linhart, A. Petiet, Early ultrastructural injuries in the thyroid of the normal rat radioinduced by diagnostic and or therapeutic amounts of iodine-131, *Cell Mol. Biol.* 47 (2001) 495–502.
- [30] B.M. Dobyns, B.A. Hyrmer, The surgical management of benign and malignant thyroid neoplasms in Marshall Islanders exposed to hydrogen bomb fallout, *World J. Surg.* 36 (1992) 126–140.
- [31] E. Cardis, A. Kesminiene, V. Ivanov, I. Malakhova, Y. Shibata, V. Khrouch, V. Drozdovitch, E. Maceika, I. Zvonova, O. Vlasov, A. Bouville, G. Goulko, M. Hoshi, A. Abrosimov, J. Anoshko, L. Astakhova, S. Chekin, E. Demidchik, R. Galanti, M. Ito, E. Korobova, E. Lushnikov, M. Maksioutov, V. Masyakin, A. Nervonia, V. Parshin, E. Parshkov, N. Piliptsevich, A. Pinchera, S. Polyakov, N. Shabeka, E. Suonio, V. Tenet, A. Tsyb, S. Yamashita, D. Williams, Risk of thyroid cancer after exposure to  $^{131}\text{I}$  in childhood, *J. Natl Cancer Inst.* 97 (2005) 724–732.