

> Jeudi 4 avril

10 h 50 - 11 h 55 Salle Marie Mauron

SESSION PARALLÈLE

> MÉDECINE - Expositions médicales - séquelles de radiothérapies

Présidente: Agnès FRANÇOIS

Docteure en physiologie/physiopathologie

Sarmini BAVANANTHAN - Réponse de l'épithélium broncho-alvéolaire lors d'une irradiation pulmonaire en conditions stéréotaxiques : focus sur les cellules club.

Claire LAGO - Réponse de l'endothélium vasculaire à l'irradiation *in vivo* : intérêt pour la prédiction du risque de toxicité après radiothérapie.

Arthur THOMAS-JOYEUX - La réponse aux dommages de l'ADN dans le maintien de la stabilité myotubulaire après exposition aux rayonnements ionisants.

Anne-laure POULIET - Thérapie cellulaire par les cellules souches mésenchymateuses (CSM) des atteintes tissulaires de la vessie après radiothérapie.

SUJET DE LA THÈSE

Réponse de l'épithélium broncho-alvéolaire lors d'une irradiation pulmonaire en conditions stéréotaxiques : focus sur les cellules club

Doctorante :	Sarmini BAVANANTHAN
Date du début de la thèse :	10/10/2022
Laboratoire IRSN :	PSE-SAN/SERAMED/LRMed
Référent IRSN de la thèse :	Agnès FRANCOIS
Direction de la thèse :	Agnès FRANCOIS/IRSN
École doctorale :	Université Paris-Saclay – Cancérologie, biologie, médecine, santé - ED 582
Financement de la thèse :	IRSN

Le LRMed a développé un modèle préclinique d'irradiation de petits volumes pulmonaires chez la souris. Ce modèle mime les nouveaux protocoles de radiothérapie pulmonaire dite en « conditions stéréotaxiques ». L'objectif est d'étudier la réponse de l'épithélium broncho-alvéolaire, en particulier après de fortes doses d'irradiation sur de petits volumes de poumon de souris, en mettant en lumière le rôle des cellules Club dans le développement des lésions pulmonaires radio-induites. Ce projet s'insère dans l'un des enjeux de l'IRSN qui vise à identifier et prévenir les effets secondaires des rayonnements ionisants.

La thèse se déroule en trois parties. Premièrement, un modèle de déplétion chimique des cellules club, transitoire ou maintenue, est utilisé afin de déterminer l'impact des cellules club sur le développement des lésions radio-induites pulmonaires. Deuxièmement, nous suivons par séquençage ARN sur cellules uniques les profils d'expression génique des populations cellulaires de l'épithélium bronchiolique en réponse aux rayonnements ionisants. Enfin, l'administration d'utéroglobine recombinante chez les souris irradiées permettra de déterminer si l'impact des cellules club sur le développement des lésions pulmonaires dépend de la sécrétion de cette protéine. Chez les souris C57Bl6/J, une déplétion transitoire des cellules Club est induite par l'injection intrapéritonéale de naphtalène, NA, (ou d'huile de maïs, CO, son véhicule). L'irradiation est réalisée au SARRP, en utilisant un faisceau collimaté de 3x3mm² et une dose unique de 80 Gy délivrée en arc sur le poumon gauche, générant une inflammation aiguë focale et une fibrose pulmonaire. L'irradiation est effectuée soit 3 jours après l'injection de naphtalène, au nadir des cellules club, soit 14 jours après l'injection de naphtalène, lorsque celles-ci sont réapparues. Le tissu pulmonaire est étudié 1 mois (inflammation) et 6 mois (fibrose) après l'exposition, à l'aide de scanners thoraciques et d'analyses anatomopathologiques et immunohistologiques.

Un mois post-exposition, nous observons une opacification du volume cible, révélant une inflammation tissulaire sévère, associée à une désorganisation complète de l'architecture pulmonaire. La zone lésée est caractérisée par une perte des cellules club et une réduction globale du nombre de cellules épithéliales bronchioliques. Les souris traitées au NA présentent des lésions tissulaires plus diffuses, avec un épaississement septal significativement plus important, suggérant un rôle protecteur des cellules club. L'analyse micro-CT révèle une moindre opacification tissulaire, confirmant la nature diffuse de la lésion. L'irradiation des souris après le retour des cellules club a effacé les différences de dommages tissulaires observés, suggérant que le repeuplement des cellules Club se fait avec des cellules pleinement fonctionnelles.

Mots clés : irradiation stéréotaxiques, poumon, cellules club, inflammation, fibrose.

SUJET DE LA THÈSE

Réponse de l'endothélium vasculaire à l'irradiation *in vivo* : intérêt pour la prédiction du risque de toxicité après radiothérapie

Doctorante :	Claire LAGO
Date du début de la thèse :	10/10/2022
Laboratoire IRSN :	PSE-SAN/SERAMED/LRMed
Référent IRSN de la thèse :	Olivier GUIPAUD
Direction de la thèse :	Olivier GUIPAUD/IRSN
École doctorale :	Université Paris-Saclay – Cancérologie, biologie, médecine, santé - ED 582
Financement de la thèse :	IRSN & EDF

La radiothérapie, bien que cruciale dans le traitement du cancer, induit des dysfonctionnements de l'endothélium vasculaire. Les cellules endothéliales, en recrutant les cellules immunitaires, régulent l'inflammation et la réponse immunitaire par la production de molécules d'adhésion et d'activation. Cependant, le recrutement chronique de cellules immunitaires en réponse à la radiothérapie peut avoir des effets néfastes sur les tissus sains. La réponse moléculaire des cellules endothéliales aux radiations *in vitro* est bien caractérisée, mais leur implication dans la réponse immunitaire *in vivo* reste peu comprise.

Par une approche de séquençage de l'ARN de cellules uniques (scRNA-seq), cette étude vise à décrypter la réponse moléculaire des cellules endothéliales pulmonaires de souris irradiées et explorer leurs interactions avec les cellules immunitaires pour mieux comprendre leur rôle dans la réponse immunitaire. Les souris ont été exposées à une irradiation du thorax entier à 18 Gy (10 MV, 2,5 Gy/min) avec un LINAC pour induire une fibrose pulmonaire, puis étudiées 7 jours, 3 mois et 6 mois après l'irradiation et comparées à des souris non exposées au même temps. Les cellules immunitaires (CD45+) et les cellules endothéliales (CD45-CD31+) ont été isolées à partir de la dissociation pulmonaire, et le scRNA-seq (technologie 10X Genomics) pour identifier les types cellulaires et l'expression génique à l'aide des outils SEURAT, ICELLNET et CellChat sur RStudio.

L'analyse histologique et l'imagerie micro-CT ont permis de caractériser la fibrose pulmonaire et la cytométrie en flux de confirmer une diminution significative du nombre de cellules endothéliales six mois après l'irradiation, suggérant une perte cellulaire en faveur de la fibrose. Les cellules endothéliales provenant de souris irradiées et mises en culture ont montré une incapacité à proliférer, indiquant des altérations causées par l'irradiation. L'analyse bioinformatique a permis d'explorer l'expression génique des cellules endothéliales et de cellules immunitaires pour les 24 souris de l'étude (4 souris par temps et par dose d'irradiation). Les résultats ont révélé des changements d'expression génique des cellules endothéliales ainsi que des altérations dans les interactions avec les cellules immunitaires post-irradiation. L'étude prévoit ensuite d'irradier des souris à énergie (irradiation au SARRP, 220 kV) et débit de dose (irradiation FLASH, à Gustave Roussy) différents pour étudier l'impact des traitements sur la réponse des cellules endothéliales et la réponse immunitaire. Ce projet, intégré aux enjeux de l'IRSN visant à mieux identifier les effets secondaires des rayonnements ionisants, pourrait renforcer la capacité à prédire l'impact et les risques des traitements utilisant ces rayonnements.

Mots clés : radiothérapie, endothélium, réponse immunitaire.

SUJET DE LA THÈSE

La réponse aux dommages de l'ADN dans le maintien de la stabilité myotubulaire après exposition aux rayonnements ionisants

Doctorant :	Arthur THOMAS-JOYEUX
Date du début de la thèse :	17/10/2022
Laboratoire IRSN :	PSE-SAN / SERAMED / LRAcc
Référent IRSN de la thèse :	Céline BALDEYRON
Direction de la thèse :	Marc BENDERITTER / IRSN
École doctorale :	Sorbonne Paris Cité - Bio Sorbonne Paris Cité (BIOSPC) - ED 562
Financement de la thèse :	IRSN

Mon projet de thèse, rattaché au nouvel Axe-Programme "Vers une utilisation sûre et optimisée des rayonnements ionisants (RI) en médecine", répond à la question 5 de la stratégie scientifique de l'IRSN, qui cherche à identifier et prévenir les effets secondaires des RI utilisés à des fins diagnostiques et thérapeutiques. Le muscle squelettique représentant jusqu'à 40% de notre masse corporelle est l'un des tissus le plus souvent retrouvé dans le champ d'irradiation. Avec l'allongement de la survie des patients atteints de cancer, l'apparition de lésions musculosquelettiques est de plus en plus rapportée comme séquelles tardives des traitements par radiothérapie. Ma thèse a pour objectif de mieux comprendre les mécanismes moléculaires permettant aux cellules du muscle strié squelettique de maintenir la coordination cellulaire et donc l'homéostasie du tissu musculaire après expositions aux RI.

Dans le muscle sain, les cellules souches musculaires jouent un rôle crucial dans le maintien de son homéostasie et de sa régénération. Pour étudier l'impact d'une exposition aux RI sur l'homéostasie musculaire, j'ai réalisé différents tests *in vitro* de mesure de capacité myogénique à partir de cellules souches immortalisées (C2C7) ou primaires issus de souris C57BL/6J. Après irradiation globale (LINAC : 0/5/10Gy, rayon X 10MeV), mes données montrent une baisse significative des capacités de prolifération, de différenciation et de fusion des cellules myogéniques proportionnellement à la dose.

Pour étudier la réponse aux dommages radio-induits de l'ADN dans les cellules myogéniques, j'ai analysé le recrutement de la protéine HP1 α (impliquée entre autres dans la réparation de l'ADN) au site des cassures de l'ADN induit localement dans le noyau des cellules C2C7 (Microfaisceau d'ions : proton 4MeV ou particule α 6MeV). Mes données montrent que la réponse aux dommages radioinduits diminue en fonction de l'état de différenciation myogénique et du nombre de particules utilisées.

Afin de caractériser la communication des cellules irradiées vers les cellules voisines nonirradiées / ciblées, j'ai posé l'hypothèse que les exosomes soient impliqués dans la propagation d'un signal extracellulaire pour le maintien de l'homéostasie musculaire. Des résultats préliminaires montrent que l'utilisation d'un inhibiteur de leur biogénèse (GW4869) induit une réponse différentielle sur l'accumulation de HP1 α aux sites d'irradiation localisée. En parallèle, j'ai réalisé des isolations d'exosomes, dont le contenu en protéines est en cours d'analyse. La prochaine étape sera d'étudier l'impact de ces exosomes sur la réponse aux dommages de l'ADN dans les cellules myogéniques préalablement irradiées ou non pour évaluer leur potentiel radio-protecteur ou radio-sensibilisant.

Mots clés : radiothérapie, muscle strié squelettique, dommage radio, induit, ADN, chromatine.

SUJET DE LA THÈSE

Thérapie cellulaire par les cellules souches mésenchymateuses (CSM) des atteintes tissulaires de la vessie après radiothérapie

Doctorante :	Anne-Laure POULIET
Date du début de la thèse :	10/10/2022
Laboratoire IRSN :	PSE-SAN/SERAMED/LRMed
Référent IRSN de la thèse :	Alain CHAPEL
Direction de la thèse :	Alain CHAPEL/IRSN
École doctorale :	Sorbonne université - Physiologie, physiopathologie, thérapeutique - ED 394
Financement de la thèse :	IRSN

La cystite radique chronique (CRC) est une pathologie consécutive à une radiothérapie pelvienne. Elle est caractérisée par une inflammation chronique de la vessie, avec des symptômes tels que la douleur et les saignements. Les études antérieures ont montré que la thérapie par les cellules stromales mésenchymateuses (CSM) est un traitement d'autres pathologies de la vessie comme la cystite interstitielle et de la cystite hémorragique. Les CSM pourraient constituer une stratégie thérapeutique. Ce projet s'inscrit dans l'un des enjeux de l'IRSN qui vise à identifier et à prévenir les effets secondaires des rayonnements ionisants.

Un modèle de CRC a été développé chez le rat afin d'évaluer l'effet du traitement par les CSM sur cette pathologie. L'irradiation de la vessie entière avec une dose totale de 40Gy à l'aide de deux faisceaux est réalisée en utilisant une plateforme d'irradiation pour petits animaux (SARRP). Afin de potentialiser l'effet du traitement, les CSM sont injectées de manière répétée par voie intraveineuse avant le développement de la cystite radique chronique. Des analyses physiologiques, histologiques et transcriptomiques sont réalisées. Au niveau physiologique, le traitement par les CSM semble réduire significativement l'incontinence urinaire, lors de la CRC (6 mois après l'irradiation). Une diminution significative du nombre de lésion vasculaires de la vessie (à 12 mois post-irradiation) est également observée par cytoscopie. Les études histologiques, au niveau de la paroi interne de la vessie, montrent que le traitement par les CSM induit une diminution des hyperplasies (augmentation du nombre de cellules de l'urothélium) lors du début de la phase chronique. L'étude de l'imperméabilité et du renouvellement de l'urothélium ont révélé que le traitement permet la différenciation des cellules basales en cellules superficielles, conduisant ainsi à l'imperméabilisation de l'urothélium. En revanche, en absence de traitement, l'irradiation augmente significativement de nombre de cellules basales qui ne semblent pas se différencier en cellules superficielles.

Nos résultats montrent que le traitement par les CSM pourrait limiter la progression de la phase chronique de la cystite radio-induite. Ce traitement pourrait offrir une option thérapeutique aux patients atteints de CRC résistante aux traitements conventionnels.

Mots clés : cystite radique, cellules stromales mésenchymateuses, radiothérapie.



