

Thèses remarquées

Bioaccumulation du sélénium et effets biologiques induits chez le bivalve filtreur *Corbicula fluminea*. Prise en compte de l'activité ventilatoire, de la spéciation du sélénium et de la voie de contamination. É. Fournier. Thèse de doctorat de l'université de Bordeaux 1, soutenue le 10 octobre 2005, laboratoire d'accueil : IRSN/DEI/SECRE – Laboratoire de Radioécologie et d'Ecotoxicologie, direction de thèse : co-direction J. Garnier-Laplace et J.-C. Massabuau, responsable IRSN : C. Adam.

Le sélénium est un micronutriment essentiel pour la majorité des organismes vivants dans une gamme étroite de concentrations, au-delà de laquelle des effets toxiques sont observés. La compréhension des mécanismes de toxicité est compliquée par le comportement biogéochimique complexe du sélénium dans l'environnement, notamment du fait de ses nombreux degrés d'oxydation.

Le but de ce travail de thèse était d'acquérir des connaissances sur les facteurs physiologiques et environnementaux impliqués dans les processus de bioaccumulation et de toxicité du sélénium chez le bivalve filtreur *C. fluminea*. Les objectifs étaient : (i) de définir quels étaient les facteurs impliqués dans les processus de bioaccumulation du sélénium chez le bivalve ; (ii) de caractériser la bioaccumulation du sélénium à différents niveaux d'organisation biologique ; (iii) d'appréhender les effets toxiques du sélénium.

Les premières expériences menées à court terme (3 jours) ont permis de souligner l'importance de la spéciation chimique, de la voie de transfert et de la physiologie dans les processus de bioaccumulation du sélénium chez *C. fluminea*. Les formes inorganiques ont été mieux extraites par la voie trophique, tandis que la forme organique étudiée, la sélénométhionine, a été mieux extraite par la voie directe. Bien que la ventilation du bivalve ait été largement affectée par la présence de sélénite et de sélénométhionine dissous (voie directe), elle n'a pas constitué un facteur limitant pour la bioaccumulation du sélénium. En revanche, elle a largement gouverné la bioaccumulation du sélénium apporté par les algues (voie trophique). Par ailleurs, ces expérimentations ont montré que dans nos conditions expérimentales, l'effet de ces facteurs chimiques et physiologiques pouvait engendrer des concentrations internalisées différant de plusieurs ordres de grandeur, et par conséquent, des mécanismes d'internalisation probablement différents (*i.e.* phénomènes de saturation ou d'homéostasie).

Nous avons montré que la bioaccumulation de la sélénométhionine était beaucoup plus rapide que celle du sélénite. En outre, apporté sous forme de sélénométhionine, le sélénium internalisé est apparu relativement rémanent dans le corps mou de *C. fluminea* par rapport au sélénium apporté sous forme de sélénite. Les répartitions subcellulaires de ces formes sont apparues également très différentes, puisque le sélénite a été retrouvé majoritairement dans le cytosol et la sélénométhionine dans la fraction insoluble. Les profils protéiques observés sont

également différents, la sélénométhionine se retrouvant très rapidement dans des protéines de poids moléculaires variés, tandis que le sélénite est associé à des pools protéiques précis, ce qui pourrait indiquer son incorporation de manière spécifique dans les sélénoprotéines.

Enfin, il a été montré que la sélénométhionine et le sélénite pouvaient engendrer de faibles altérations du statut anti-oxydant et de l'expression génétique chez *C. fluminea*. En revanche, d'importantes modifications de l'ultrastructure du tissu branchial ont été observées après exposition au sélénite et à la sélénométhionine, avec un tissu branchial désorganisé pour les deux formes de sélénium et des atteintes aux mitochondries dans le cas de l'exposition à la sélénométhionine et aux filaments branchiaux dans le cas de l'exposition au sélénite.

Application des fantômes numériques voxélisés associés au code Monte Carlo MCNP à la mesure *in vivo* réaliste des actinides dans les poumons et les plaies contaminées.

N. Pierrat. Thèse de doctorat de l'université Paris-XI, faculté de médecine Paris-Sud, soutenue le 6 décembre 2005, École doctorale de cancérologie-biologie-médecine-santé, spécialité : rayonnements et imagerie en médecine, Laboratoire d'accueil : IRSN/DRPH/SDI – Laboratoire d'évaluation de la dose interne, directeur de thèse : D. Franck, responsable IRSN : L. de Carlan.

L'anthroporadiométrie, méthode d'estimation de la contamination interne par une mesure spectrométrique des raies X et gamma qui sortent de l'organisme, est une méthode très appréciée pour la surveillance des personnes exposées à un risque de contamination interne. Cette technique est cependant limitée par l'utilisation de mannequins (appelés également « fantômes ») physiques d'étalonnage qui ne peuvent représenter, pour des raisons techniques, qu'une approximation de la géométrie de la personne à mesurer. Les avancées dans les domaines de l'imagerie médicale et de l'informatique ont permis de concevoir une nouvelle approche de la mesure anthroporadiométrique, qui associe à un code de calcul Monte Carlo des fantômes numériques, directement basés sur les images scanner ou IRM des personnes. Dans le contexte de la mise en place au laboratoire de cette méthode innovante par l'intermédiaire d'un outil informatique spécifique, ŒDIPE, l'axe principal de la thèse a été d'apporter des éléments de réponse à la question suivante : quels sont les apports de ces fantômes numériques et des nouvelles techniques telles qu'ŒDIPE pour améliorer les étalonnages en anthroporadiométrie pulmonaire et pour la mesure des plaies contaminées ?

Après des développements dans l'interface ŒDIPE, la méthode numérique a été implémentée et validée pour des systèmes composés de quatre détecteurs germanium dédiés à la mesure pulmonaire, géométrie la plus répandue dans les laboratoires d'analyses de biologie médicale. Cette étude constitue la première étape en vue d'un étalonnage numérique des installations, spécifique à la personne, qui permettra d'estimer de façon plus fiable la rétention d'activité.

Dans un second temps, une évaluation exhaustive des incertitudes rencontrées en anthroporadiométrie pulmonaire a pu être menée grâce à l'approche proposée par ŒDIPE. Il a ainsi été montré que les incertitudes estimées de façon expérimentale dans des travaux antérieurs avaient été sous-estimées, notamment les variations morphologiques entre fantôme et personne. Des améliorations de la procédure de mesure ont alors été proposées, en

particulier de nouvelles équations bioparamétriques spécifiques aux conditions de mesure françaises qui permettent un choix plus judicieux du fantôme d'étalonnage en estimant directement l'épaisseur de la plaque extrathoracique à rajouter au fantôme de référence, à savoir le fantôme de Livermore, en fonction du poids et de la taille de la personne à mesurer.

L'intérêt des fantômes numériques et de la simulation Monte Carlo a enfin été mis en évidence pour l'étude de cas concrets et réalistes de contamination, non accessibles par la méthode classique, que ce soit au niveau des poumons, par une étude animale sur primate, ou d'une blessure. Dans ce dernier cas, la technique a permis d'ajuster le niveau de la contamination présente dans un cas réel de blessure de la main et devrait permettre d'améliorer la détermination de la géométrie de la source, permettant d'affiner le calcul dosimétrique.

Grâce à cette approche innovante, un étalonnage « personnalisé » des installations, que ce soit au niveau morphologique ou de la distribution des contaminants, apparaît possible et représente une étape importante dans le cadre de la mise en place d'une dosimétrie personnalisée.

Extraction sélective des actinides par les calixarènes, Application à l'analyse radiotoxicologique. B. Boulet. Thèse de doctorat de l'université Paris-VI, École doctorale de Chimie Analytique, soutenue le 14 décembre 2005. Laboratoire d'accueil : IRSN/DRPH/SDI, laboratoire de Radiochimie, collaboration avec le laboratoire d'Électrochimie et Chimie Analytique, ENSCP, directeur de thèse : Pr. Gérard Cote, responsable scientifique : Dr Céline Bouvier-Capely.

Le suivi de l'élimination des radioéléments émetteurs α dans les urines est un des contrôles effectués pour la surveillance dosimétrique *in vitro* des travailleurs exposés au risque de contamination interne. Cette mesure est réalisée en routine dans les Laboratoires d'Analyse de Biologie Médicale (LABM) après minéralisation de l'urine et séparation des radioéléments sur des colonnes chromatographiques. Les méthodes actuellement utilisées sont validées et maîtrisées. Cependant, les protocoles sont longs et lourds à mettre en œuvre.

L'objectif de cette thèse était de déterminer des conditions permettant d'isoler sélectivement U, Pu et Am de la matrice urine afin de proposer aux LABM un nouveau protocole plus performant pour l'analyse des actinides *in vitro*.

L'étude a commencé par la recherche d'un ligand sélectif des actinides afin de les extraire du milieu urinaire. Un calix[6]arène fonctionnalisé par des groupements acides hydroxamiques, le 1,3,5-OCH₃-2,4,6-OCH₂CONHOH-*p-tert*-butylcalix[6]arène (noté L_{Hyd}H₃) a été retenu. Les critères de choix ont été la géométrie et la fonctionnalisation de ce macrocycle. Les propriétés de cette molécule ont été comparées à celles du 1,3,5-OCH₃-2,4,6-OCH₂COOH-*p-tert*-butylcalix[6]arène (L_{Carb}H₃), calix[6]arène identique à L_{Hyd}H₃, mais fonctionnalisé par des groupements acides carboxyliques au lieu des groupements acides hydroxamiques.

Les propriétés physico-chimiques de L_{Hyd}H₃ et son affinité pour l'ion uranyle ont été étudiées en suivant deux approches, une théorique et une expérimentale. L'approche théorique, utilisée en tant qu'outil, a été réalisée avec des calculs de modélisation moléculaire à un niveau élevé de précision (DFT). Les deux approches ont montré que la conformation la

plus stable de $L_{\text{Hyd}}\text{H}_3$ dans un solvant organique polaire est la conformation cône et que $L_{\text{Hyd}}\text{H}_3$ est un extractant moins acide que $L_{\text{Carb}}\text{H}_3$. Le site de déprotonation des fonctions hydroxamiques dans l'eau a été attribué au site OH. Les deux approches ont également montré que l'interaction entre $L_{\text{Hyd}}\text{H}_3$ et UO_2^{2+} est plus forte qu'avec $L_{\text{Carb}}\text{H}_3$. L'équilibre d'extraction de UO_2^{2+} par $L_{\text{Hyd}}\text{H}_3$ a été déterminé expérimentalement en système liquide-liquide ainsi que la valeur de la constante d'extraction apparente associée ($(7,22 \pm 0,77) \times 10^{-5}$ M). Avec cette technique, l'ion uranyle est extrait à plus de 95 % à partir de pH 5 et désextrait à 90 % en milieu plus acide (HNO_3 2M). Cette étude a donc confirmé la possibilité d'utiliser les calculs en tant qu'outil prédictif et le système calix[6]arène / ion uranyle a pu être caractérisé à l'aide de données expérimentales et théoriques.

Dans le but de proposer un protocole adapté aux analyses en routine, les conditions d'extraction optimales de UO_2^{2+} en système liquide-liquide ont été transposées à une technique adaptée aux analyses systématiques, à savoir l'extraction sur support solide (supports imprégné et greffé). Avec cette dernière technique, l'isolement de l'ion uranyle provenant du milieu urinaire est resté quantitatif. L'étude a ensuite été élargie au plutonium et à l'américium. Les résultats ont montré que le plutonium peut être extrait par $L_{\text{Hyd}}\text{H}_3$ sélectivement et quantitativement en présence de U et de Am. Ces deux éléments sont ensuite extraits ensemble du milieu urinaire minéralisé, puis séparés à l'étape d'élution à l'aide d'un agent complexant sélectif (EDTA).

L'ensemble de ce travail a permis de proposer un protocole de séparation de U, Pu et Am présents à l'état de traces dans l'urine. Après optimisation, ce protocole permettra aux LABM de réaliser le traitement chimique de l'urine, avant la mesure, en un jour au lieu des trois couramment nécessaires.