

Thèses remarquées

Mécanismes de régulation du Flt3-ligand après irradiation. M. Prat. Thèse de doctorat de l'université Paris-XI, faculté de médecine Paris-sud, soutenue le 13 juin 2005, laboratoire d'accueil : LTCRA (IRSN/DRPH), directeur de thèse : Pr. Norbert-Claude Gorin, responsable scientifique : Jean Marc Bertho.

Le compartiment hématopoïétique est l'un des plus sévèrement endommagé lors de traitements anticancéreux comme lors d'irradiations accidentelles. L'atteinte de ce compartiment conduit à une aplasie médullaire associée à une pancytopenie périphérique dont la sévérité croît avec la dose d'irradiation et le volume médullaire irradié. Les pancytopenies profondes induisent des risques infectieux et hémorragiques importants pour les patients. Cependant, la sévérité de l'atteinte hématopoïétique reste difficile à évaluer, notamment à la suite d'une irradiation accidentelle. Pour ces raisons, il serait intéressant de disposer d'un bio-indicateur fiable permettant d'estimer l'hématopoïèse résiduelle et ainsi d'adapter le traitement à chaque situation clinique.

Des données de la littérature ont suggéré que le suivi de la concentration sanguine de Flt3 ligand, une cytokine capable d'induire la prolifération des cellules souches hématopoïétiques, pourrait constituer un tel bio-indicateur. Nous avons donc suivi, dans différents modèles animaux comme dans différentes situations cliniques, les variations de concentration de Flt3 ligand après irradiation homogène ou hétérogène. Dans tous les cas, les variations de concentration du Flt3 ligand sont directement corrélées à la profondeur et à la durée de la pancytopenie. De plus, chez la souris, une corrélation négative a été mise en évidence entre le nombre de progéniteurs hématopoïétiques survivants et la concentration sanguine de Flt3 ligand, quels que soit la dose d'irradiation et le volume médullaire irradié. Ceci démontre que le Flt3 ligand est un bio-indicateur fiable de l'atteinte hématopoïétique, permettant dès le 3^e jour après irradiation, une évaluation de l'hématopoïèse résiduelle et une évaluation prédictive des durées de thrombopénie, de leucopénie et d'aplasie médullaire, quelle que soit la configuration d'irradiation.

Cependant, l'utilisation en clinique humaine du Flt3 ligand comme bio-indicateur nécessite une meilleure connaissance des mécanismes de régulation de cette cytokine. Une étude a été réalisée afin de déterminer le rôle des cellules lymphoïdes dans cette régulation. Cette étude a montré que les variations de concentration de Flt3 ligand ne sont pas seulement la résultante d'un équilibre entre la consommation par les cellules hématopoïétiques et la production par les cellules lymphoïdes comme initialement proposé. De plus, nous avons montré que les lymphocytes T, initialement décrits comme d'importants régulateurs, ne jouent qu'un rôle mineur dans la régulation du Flt3 ligand, aussi bien chez la souris que chez l'homme. Ces résultats suggèrent fortement l'implication d'autres types cellulaires, et en particulier les cellules stromales de la moelle osseuse, de la rate et du thymus. Ceci a été confirmé par une étude *in vitro*, montrant que différentes lignées de cellules stromales médullaires sont capables de produire du Flt3 ligand en réponse à l'irradiation.

L'ensemble de ces travaux a permis de démontrer la validité du suivi des variations de concentration sanguine de Flt3 ligand comme bio-indicateur de l'atteinte à l'hématopoïèse, mais surtout a mis en évidence que le Flt3 ligand est un acteur majeur de la régulation homéostatique de l'hématopoïèse, en particulier dans les situations d'aplasie médullaire. La poursuite de ces études devrait permettre de déterminer le rôle du Flt3 ligand dans les mécanismes de régulation existant au sein de la niche hématopoïétique.

Effets des rayonnements ionisants sur la structure et la fonction de la cellule épithéliale intestinale. C. Haton. Thèse de doctorat de l'université Paris-VI, école doctorale de physiologie et physiopathologie, soutenue le 29 juin 2005, laboratoire d'accueil : LRPAT (IRSN/DRPH), directeur de thèse : Dr. Nina Griffiths, responsable scientifique : Marc Benderitter.

La muqueuse intestinale est une des cibles majeures des rayonnements ionisants, à la fois dans le cadre des irradiations accidentelles et dans le cas des radiothérapies. Les rayonnements ionisants exercent leur action délétère par la formation d'une grande quantité d'espèces réactives de l'oxygène (ERO), à la fois par un effet direct et par des effets indirects et secondaires à l'irradiation. La compréhension des mécanismes d'atteintes permettra d'ouvrir de nouvelles perspectives thérapeutiques afin de limiter les effets délétères des rayonnements. L'homéostasie de l'épithélium intestinal est régulée par trois facteurs : la prolifération, l'apoptose et la différenciation. Ces trois facteurs ont été étudiés à l'aide d'un modèle cellulaire afin d'analyser les modulations de cet équilibre après irradiation. Nos résultats ont montré l'établissement d'un délai mitotique (arrêt des cellules en phase G2/M du cycle cellulaire). Cet arrêt de la prolifération est suivi d'un phénomène d'apoptose tardive fortement dépendant de l'atteinte mitochondriale. En amont de l'atteinte mitochondriale, différents acteurs ont été mis en évidence comme les caspases, les céramides et les ERO. Cette forme d'apoptose tardive pourrait être induite par le phénomène de catastrophe mitotique consécutif à une altération de la mitose. L'apoptose est le mécanisme majoritaire de mort cellulaire dans notre modèle. Pour la première fois, il a été démontré que les cellules épithéliales intestinales irradiées conservent leur capacité de différenciation, montrant indirectement que ces cellules maintiennent leur aptitude intrinsèque à reconstruire un épithélium fonctionnel. Les ERO sont les intermédiaires primaires entre les propriétés physiques des rayonnements et la réponse biologique. Il est donc important d'appréhender les mécanismes anti-oxydants mis en place par la cellule. Cette problématique a été étudiée *in vivo* après une irradiation abdominale chez la souris, afin de comprendre les mécanismes de défense anti-oxydants au cours de l'évolution des atteintes de la muqueuse. Nous avons observé une réponse précoce de la mitochondrie dans les heures suivant l'irradiation révélant une atteinte ciblée de cet organite par les rayonnements. Puis nous avons démontré une forte altération de la capacité anti-oxydante, 4 jours après irradiation, révélée par une baisse des superoxydes dismutases, de la catalase et une augmentation des glutathion-peroxydases et des métallothionéines. Une partie de ces modulations dépend de l'inflammation tissulaire radio-induite. Enfin, nous avons démontré que la perte de la catalase participe aux atteintes structurales de la muqueuse. L'ensemble de ces résultats a permis de mieux décrire dans les temps précoces les mécanismes d'atteintes par les rayonnements ionisants. Puisque les cellules épithéliales irradiées conservent leur capacité de différenciation et donc leur fonctionnalité, des stratégies thérapeutiques induisant la prolifération des cryptes pourraient être envisagées.