

Description détaillée de la contribution

Titre : Effets métaboliques des rayonnements ionisants caractérisés *in vitro*.

Prénom et nom de l'auteur principal ou correspondant : Olivier Seksek

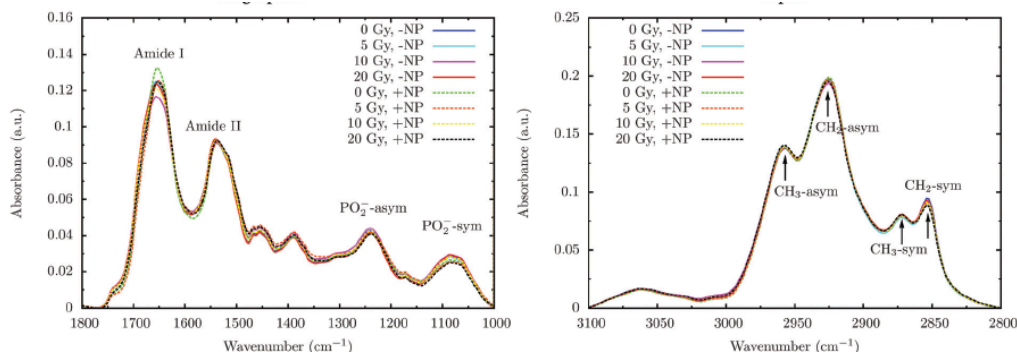
Objectif scientifique:

La toxicité des rayonnements ionisants, et notamment leur cancérogénicité, a été largement documentée depuis le début du 20^e siècle : bien que ce rayonnement puisse dénaturer n'importe quel type de molécule, l'ADN est la cible biologique la plus critique ; son altération éventuelle conduit à des défauts dans le fonctionnement cellulaire (signalisation ou réparation et contrôle du cycle cellulaire). Concernant les autres molécules constitutives de matériel biologique (protéines, lipides, glucides...), les données expérimentales sont beaucoup plus éparpillées, et les effets métaboliques subcellulaires des rayonnements ionisants sont difficilement prédictibles. Dans le cadre de la radiothérapie, l'utilisation ciblée de la toxicité de ces rayonnements sur des cellules cancéreuses à éliminer, ils varient également en fonction de la nature du rayonnement, de sa dose ou d'éventuels agents radiosensibilisateurs. De plus, au niveau de l'organisme, les études récentes semblent indiquer que les mécanismes de défense sont très différents à faible et forte dose, même si les phénomènes physiques initiaux sont effectivement proportionnels à la dose.

Dans ce contexte, afin d'appréhender plus précisément les disparités éventuelles dans le mode d'action de différentes modalités d'irradiation, nous proposons de réaliser une étude *in vitro* systématique des effets métaboliques subcellulaires, létaux ou sub-létaux, et de les corrélérer avec des données biologiques de prolifération, de migration et de morphologie cellulaires.

Deux approches expérimentales complémentaires sont envisagées :

1) spectroscopie d'abord, par FTIRM (*Fourier Transform InfraRed Microspectroscopy*) afin de détecter les modifications biochimiques subcellulaires. Le FTIRM est une technique de spectroscopie vibrationnelle permettant d'obtenir des informations biochimiques à l'échelle microscopique: les biomolécules principales (acides nucléiques, lipides, protéines...) ont des signatures spécifiques et leur modification permet d'identifier et de quantifier le mécanisme biophysique impliqué.

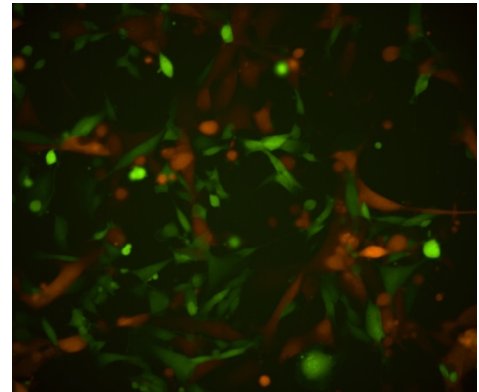


Exemple de spectres IR obtenus sur des cellules F98 (gliome de rat) avec et sans nanoparticules de Gadolinium, irradiées (5 à 20 Gy) par photons X. Des modifications peptidiques et lipidiques sont identifiables.

2) de biologie cellulaire ensuite, par le suivi en vidéomicroscopie à épifluorescence de la croissance des cellules. Cette approche passe par une étape préliminaire de modification des cellules à étudier en intégrant dans leur génome un marquage fluorescent stable par des méthodes de biologie

moléculaire. En pratique, une même lignée cellulaire sera modifiée pour obtenir des sous-populations fluorescentes (vertes, rouges...) permettant des traitements différenciés : une sous-population irradiée pourra ensuite être mise en culture avec une autre sous-population de la même lignée mais non irradiée, et suivre leur croissance/interactions/changements morphologiques.

Exemple de cellules F98 (gliome de rat) irradiée à 20 Gy (photons X) en vert, mélangées avec le même type de cellules non irradiées (rouges). Cette image fait partie d'un film composé d'1 image/10 min pendant 7 jours.



L'objectif sera de réaliser en parallèle sur plusieurs lignées cellulaires modifiées, les deux types d'expérimentation avec les modalités suivantes :

- **irradiation X**, à faible et forte doses, fractionnement de la dose,
- **irradiations hadrons** (proton, carbone, oxygène, hélium, néon...), faible et forte doses, fractionnement de la dose,

puis:

- utilisation de **radiosensibilisateurs** de type nanoparticule (Or, gadolinium, fer...) combinée aux différents types d'irradiations,

et:

- croissance *in vitro* des cellules sur des **substrats de type 3D**, avec les différentes modalités d'irradiations déjà mentionnées, dans le but de mimer une croissance cellulaire plus proche de la croissance *in vivo*.

A terme, il s'agira d'obtenir un "atlas" des corrélations entre modifications métaboliques et comportement cellulaire, et éventuellement prédire ce comportement.

Cette contribution prospective se situe dans la continuité de projets en cours ayant déjà donné lieu à des publications :

1) mesure par FTIRM des modifications métaboliques suivant certaines modalités d'irradiation:

- Yousef et al. (2016) *Analyst* **141**, 2238
- Martinez-Rovira et al. (2019) *Analyst* **144**, 5511
- Martinez-Rovira, Seksek & Yousef (2019) *Analyst* **144**, 6352

2) suivi de la croissance cellulaire sur substrats 3D :

- Gontran et al. (2018) *J. Applied Polymer Science* **135**, 46287

Elle fait aussi partie des études en cours sur le fractionnement spatial de la dose (photon, proton, ions) portées par Y. Prezado.

Enfin, elle fait également partie d'un projet plus vaste porté par M. Badoual, de modélisation informatique *in silico* de la croissance cellulaire: les données obtenues sont analysées pour permettre d'alimenter la création d'un modèle de prédiction de croissance cellulaire en fonction des traitements appliqués (radiothérapie ou autres).