

**IRSN**

INSTITUT  
DE RADIOPROTECTION  
ET DE SÛRETÉ NUCLÉAIRE

*Faire avancer la sûreté nucléaire*

# Induction de dommages à l'ADN dans les cellules stromales médullaires par de faibles concentrations de $^{90}\text{Sr}$ : conséquences fonctionnelles

Stefania MUSILLI<sup>1</sup>, Nour NICOLAS<sup>1</sup>, Zeina EL  
ALI<sup>2</sup>, Patricia ORELLANA-MORENO<sup>1</sup>, Céline  
GRAND<sup>1</sup>, Karine TACK<sup>1</sup>, Saadia Kerdine-  
ROMER<sup>2</sup>, Jean-Marc BERTHO<sup>1</sup>

1- IRSN / PRP-HOM / SRBE /

Laboratoire de radiotoxicologie expérimentale  
Fontenay aux roses

2- UMR 996 INSERN, Université Paris Sud,  
Châtenay Malabry, France.



*SFRP 2017, Lille*

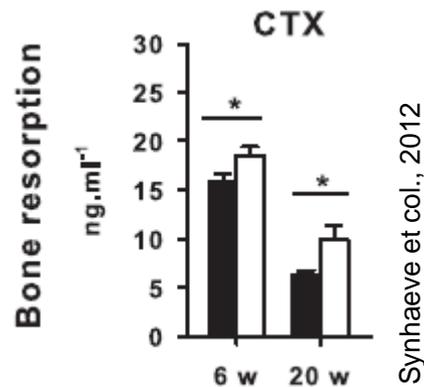
# Le $^{90}\text{Sr}$ , facteur de risque en situation PA?

- Etudes antérieures sur les effets du  $^{137}\text{Cs}$  en exposition chronique à faible concentration chez l'animal :
  - Nombreux effets observés sur différents systèmes physiologiques: Système nerveux central, physiologie cardiaque, métabolisme des oxystérols, etc...
  - Mais pas d'effet sur d'autres comme le système immunitaire (Bertho et col, 2011)
- En contradiction avec les études sur les populations impactés par les rejets de l'accident de Tchernobyl
  - Modification des populations de lymphocytes T (Yarilin 1993)
  - Modification des concentrations d'Ig (Titov 1995, McMahon 2014)
  - Modifications fonctionnelles (Chumak 2001, Kuzmenok 2003)
- Le  $^{90}\text{Sr}$  pourrait-il être responsable de certains des effets observés?
  - Radionucléide à demi-vie longue, ostéotrope et persistant dans l'environnement
  - Retrouvé dans le bol alimentaire (Cooper 1992, Shutov 2002)

# Les études antérieures chez la souris

- Modèle de contamination chronique via l'eau de boisson
- 20 KBq.l<sup>-1</sup>, soit 100 Bq.J<sup>-1</sup> par animal.
- Début de la contamination avant l'accouplement des parents
- Suivi des descendants de 1<sup>ère</sup> génération (F1)
- Dose absorbée cumulée à 20 semaines: 10 mGy (Bertho, 2012)

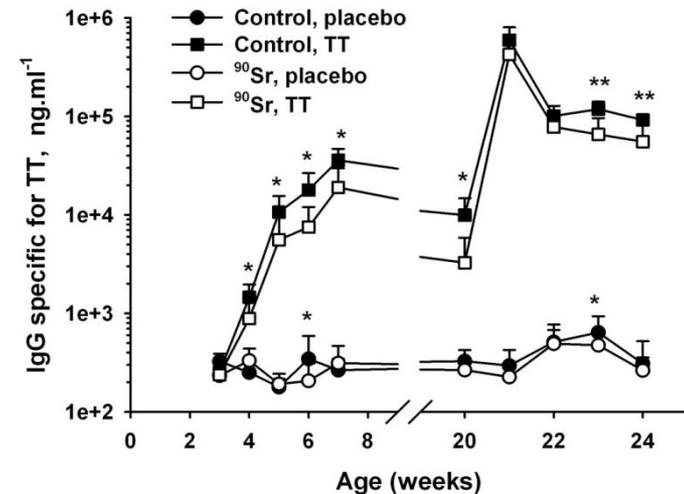
## Effet sur la physiologie osseuse



Synhaeve et col., 2012

Augmentation des produits de dégradation de l'os dans le sang

## Effet sur le système immunitaire



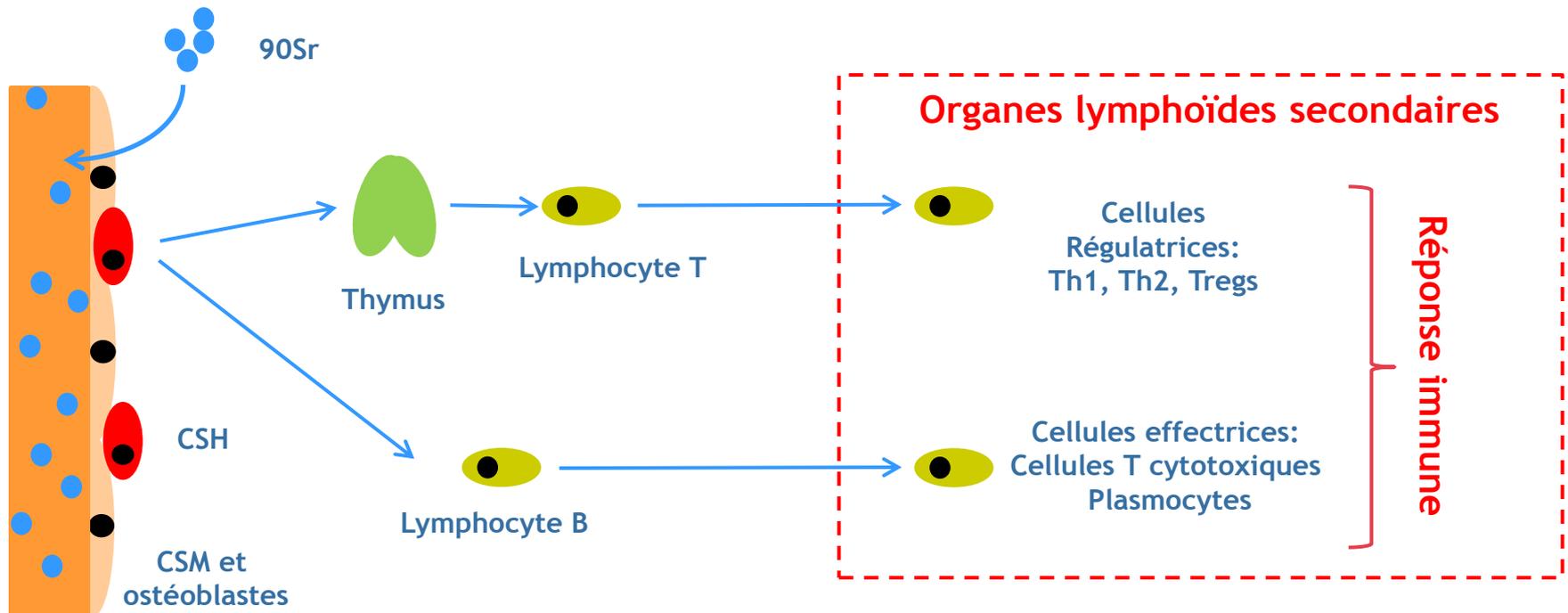
Synhaeve et col., 2016

Diminution de la réponse à la vaccination

# Hypothèse de travail

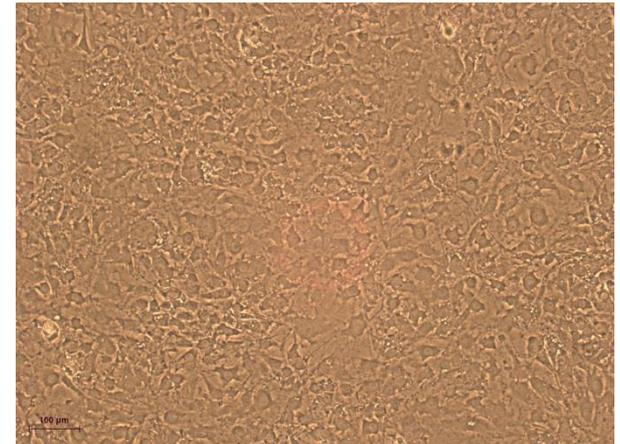
- Les observations chez la souris suggèrent que le  $^{90}\text{Sr}$  pourrait être responsable de certains des effets observés chez l'homme
- Atteinte de la physiologie osseuse et du système hématopoïétique également chez les populations exposées principalement au  $^{90}\text{Sr}$  de la rivière Techa (Akleyev 2010, Tolstykh 2011)

*Hypothèse:*



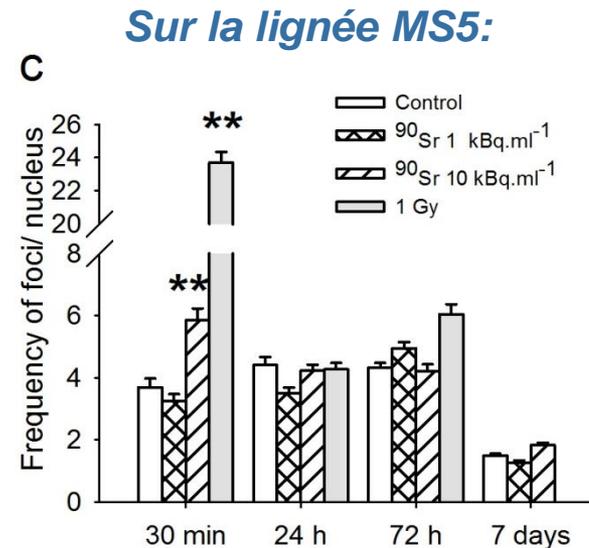
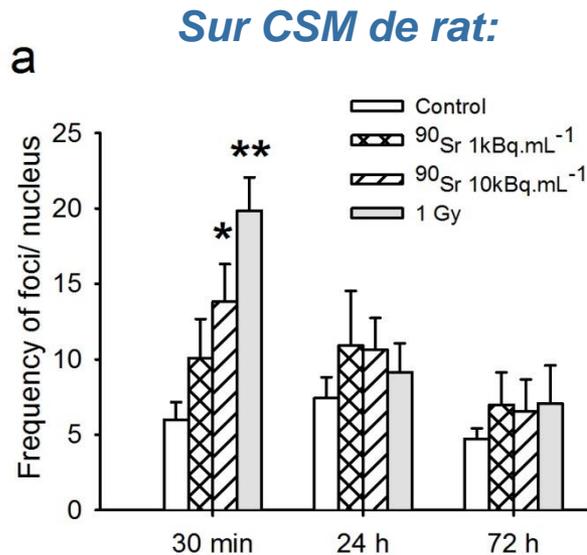
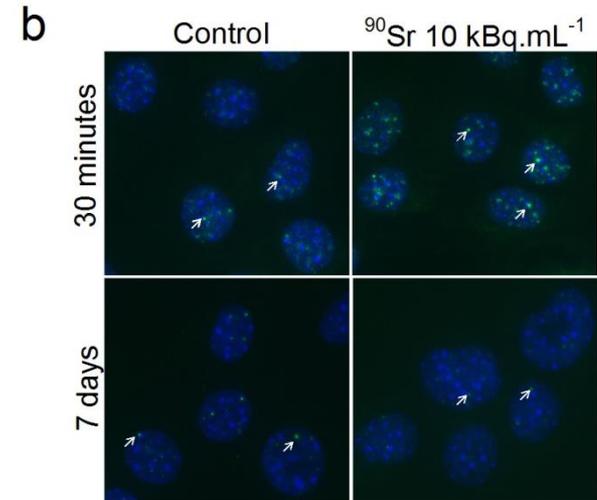
# Le modèle expérimental

- Choix d'un modèle de culture *in vitro* de cellules stromales de la moelle osseuse de souris.
  - *Cellules stromales médullaires (CSM) primaires de moelle osseuse de rat*
  - *Lignée de cellules stromales de souris MS5*
- Contamination du milieu de culture par  $^{90}\text{Sr}$
- Deux concentrations, 1 et 10  $\text{KBq.ml}^{-1}$
- Débit de dose de 0.65 et 6.5  $\text{mGy.h}^{-1}$
- Suivi des dommages à l'ADN, du statut redox, et de différents paramètres fonctionnels

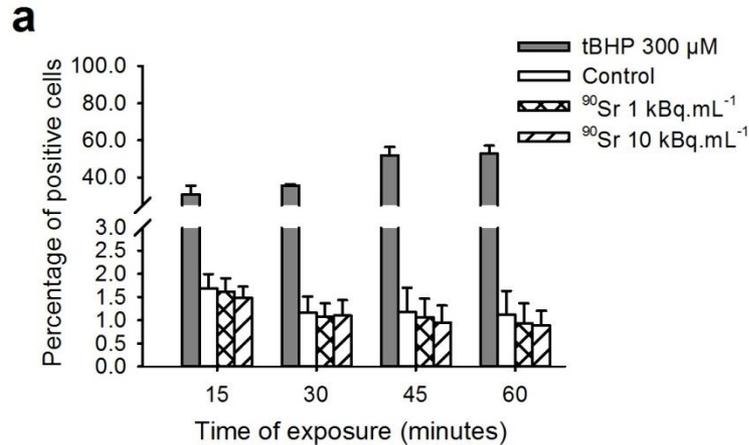


# Les dommages à l'ADN

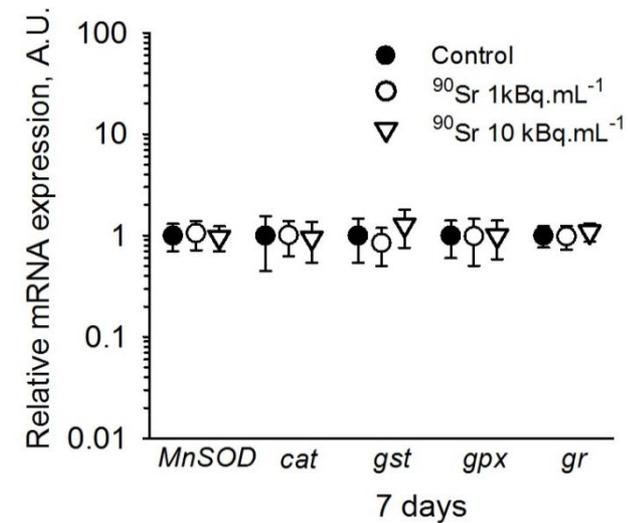
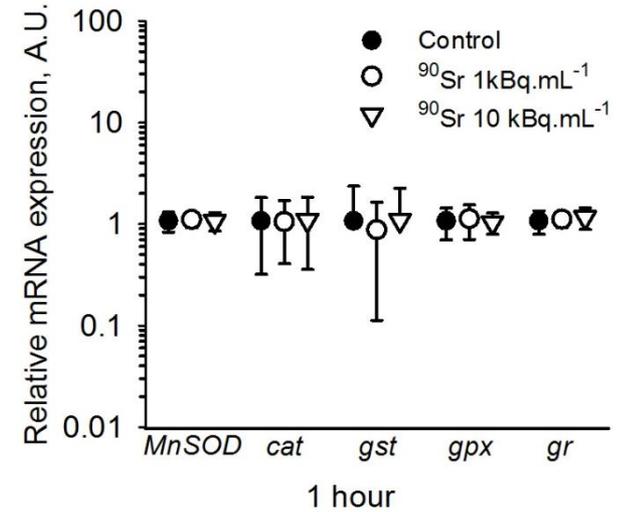
- Apparition de cassures double-brin détectées par la formation de foci  $\gamma$ -H2AX
- Pic à 30 minutes après le début de l'exposition
- Puis retour au taux basal dès 24 heures  
*La proportion de CDB est nettement supérieure à 40 CDB/Gy: effet du faible débit de dose?*



# Le statut redox

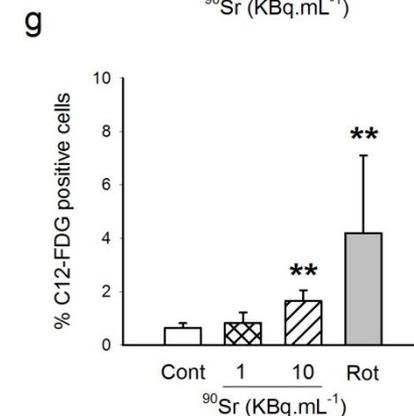
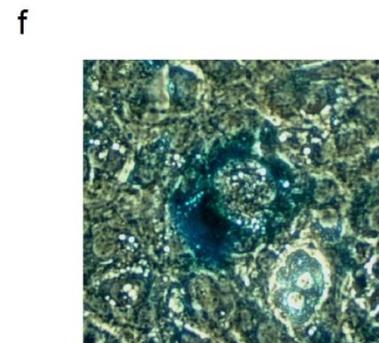
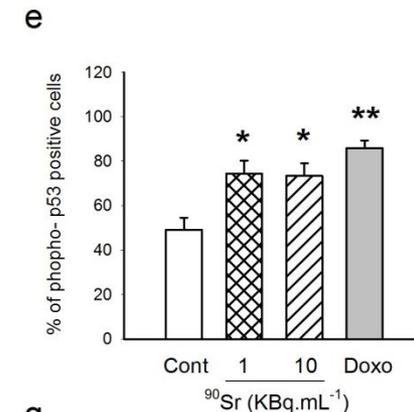
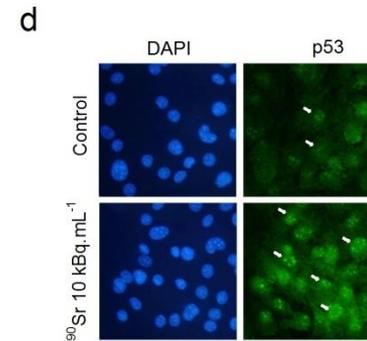
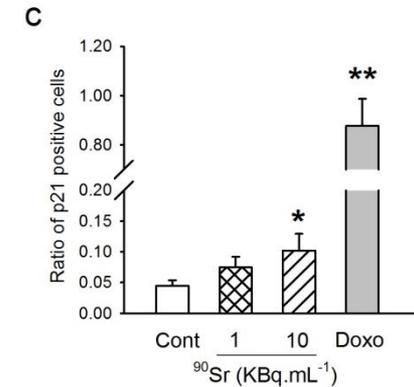
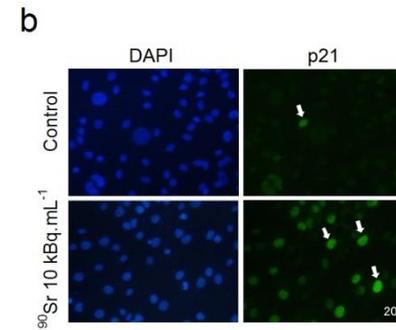


Pas d'induction détectable de stress oxydant chez les cellules MS5, que ce soit à 1 heure ou à 7 jours



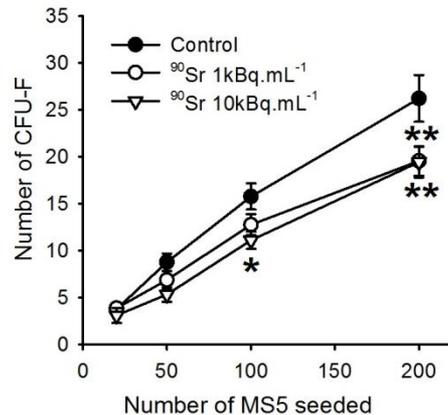
# Le $^{90}\text{Sr}$ induit la senescence des cellules MS5

- Augmentation de l'expression du gène codant p21
- Augmentation de l'expression de p21 et de p53 dans le noyau des cellules exposées au  $^{90}\text{Sr}$
- Augmentation de l'expression de la Senescence Associated  $\beta$  galactosidase
- Effet dose-réponse
- Plus important qu'attendu par rapport aux témoins positifs.



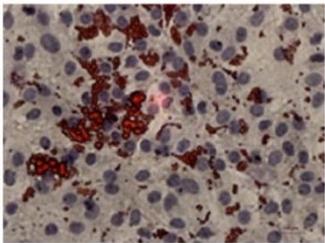
# Quelles sont les conséquences fonctionnelles?

- La senescence est classiquement associée à un arrêt de prolifération et à une induction de différenciation

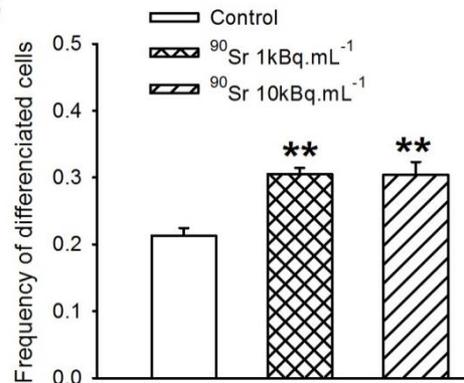


- Pas d'augmentation de l'apoptose
- Pas d'augmentation de la mortalité cellulaire
- Le ralentissement de prolifération n'est pas associé à un blocage dans le cycle cellulaire
- En parallèle, une augmentation de la différenciation vers la lignée adipocytaire

a



b



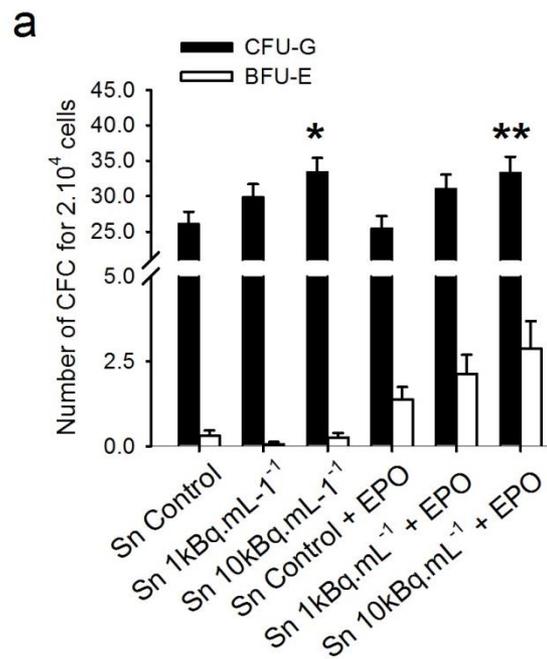
*Un effet limité sur la prolifération*

*Une augmentation de différenciation également limitée*

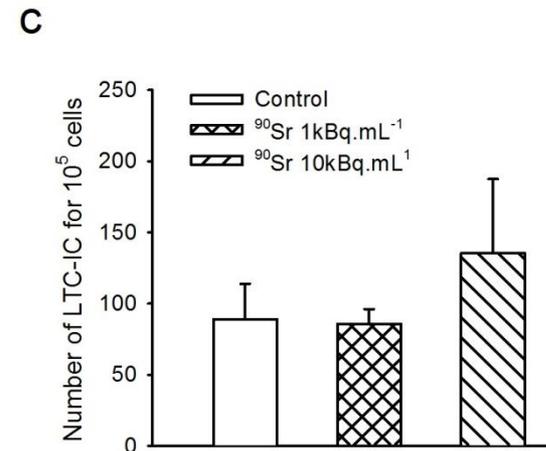
# Quelles sont les conséquences fonctionnelles (2)?

- Les cellules MS5 sont support de la différenciation des cellules souches hématopoïétiques

La formation de colonies est modifiée par les surnageant de culture de cellules exposées au  $^{90}\text{Sr}$



Les cultures à long terme (LTC-IC) ne sont pas modifiées de façon significative



*Suggère que le profil sécrétoire des cellules MS5 est modifié par l'exposition au  $^{90}\text{Sr}$*

# Une modification du profil sécrétoire

- Pas de modification de la sécrétion de cytokines régulant la prolifération des progéniteurs et cellules souches hématopoïétiques: IL-6, SCF, G-CSF, SDF-1
- Augmentation de TIMP-1, une cytokine pro-inflammatoire
- Diminution de l'IL1-ra, un inhibiteur de l'IL-1, cytokine pro-inflammatoire

*La modification du profil sécrétoire des cellules exposées au  $^{90}\text{Sr}$  tend vers un profil pro-inflammatoire.*

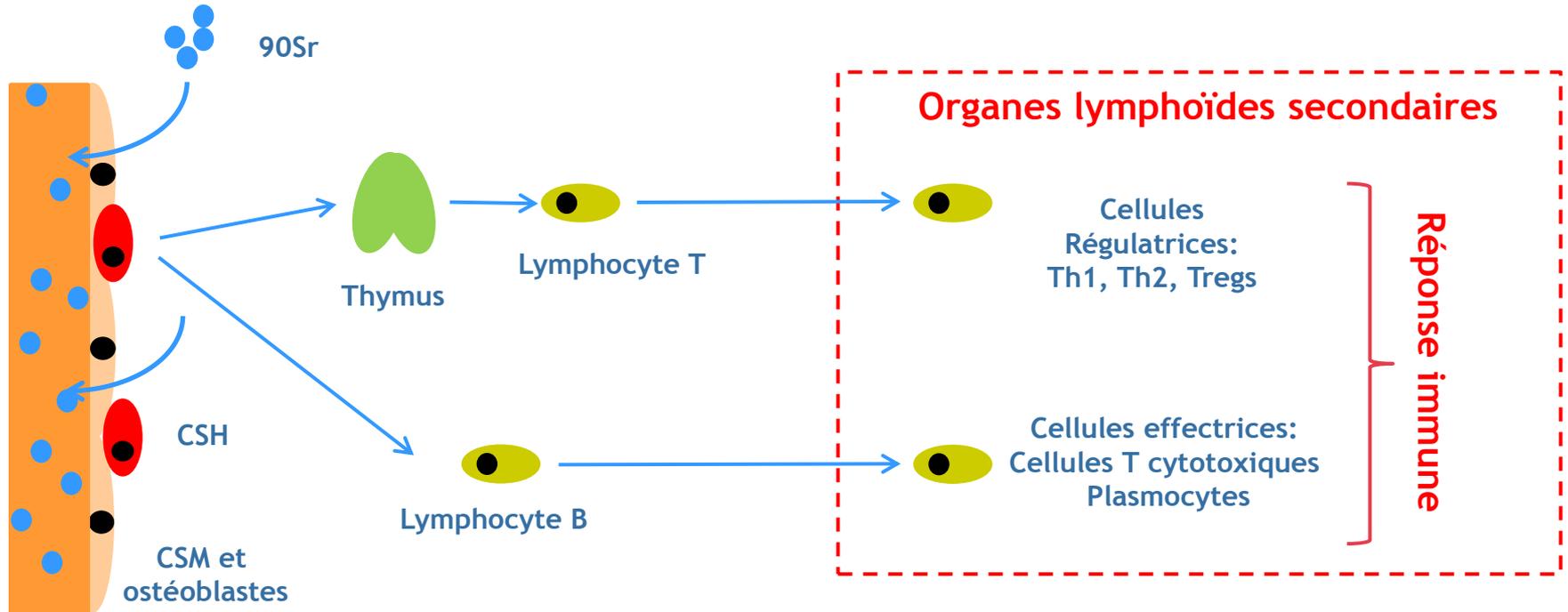
*L'effet sur la prolifération des progéniteurs hématopoïétiques est un effet indirect de l'inflammation.*

# Conclusions

- L'exposition des cellules stromales médullaires au  $^{90}\text{Sr}$  à faible concentration induit rapidement (30 minutes) des dommages à l'ADN
- Ces dommages sont réparés avec une cinétique conforme à ce qui est connu pour une irradiation externe
- La proportion de dommages est supérieure à l'attendu
- Pas d'évidence d'accumulation de dommages avec le temps dans les cellules.
  
- L'exposition au  $^{90}\text{Sr}$  induit la senescence des cellules stromales, qui s'accompagnent de changements fonctionnels:
  - Diminution de prolifération
  - Augmentation de différenciation
  - Changement de profil sécrétoire vers un profil pro-inflammatoire
  
- Ces changements fonctionnels ont des conséquences sur la régulation de la prolifération des progéniteurs hématopoïétiques

# Le futur?

- L'hypothèse initialement proposée semble tout à fait valide.
- Il semble y avoir un effet plus important qu'attendu de l'exposition chronique: ceci pourrait expliquer certaines observations.



*Il reste à vérifier la pertinence de cette hypothèse dans un modèle in vivo...*

# Remerciements à ...

Nour Nicolas

Patricia Orellana

Zeina El Ali

Céline Grand

Stefania Musilli

Aurélie Desbrée

Vincent Paget

Christelle Demarquay

Saadia Kerdine Römer

**IRSN**

INSTITUT  
DE RADIOPROTECTION  
ET DE SÛRETÉ NUCLÉAIRE

*Faire avancer la sûreté nucléaire*



# HEIR<sup>2018</sup>

12th International Conference on the  
Health Effects of Incorporated Radionuclides

October 8 - 11, 2018  
IRSN, Paris



**IRSN**

INSTITUT  
DE RADIOPROTECTION  
ET DE SÛRETÉ NUCLÉAIRE

*Florence Ménétrier  
Jean-Marc Bertho*

DE LA RECHERCHE & L'INDUSTRIE  
**cea**