



DE LA RECHERCHE À L'INDUSTRIE

Mise en évidence de l'influence de la complexation des actinides sur leur internalisation par les cellules épithéliales pulmonaires *in vitro*

Guillaume DROUET, Karine DEVILLIERS, Nicolas BAGLAN et Anne VAN DER MEEREN

Commissariat à l'énergie atomique et aux énergies alternatives - www.cea.fr

- **Actinides transuraniens du combustible nucléaire : ^{238}Pu , ^{241}Am ,...**
 - Différentes formes physiques (poussières, solutions) et chimiques (nitrate, oxydes, oxalates,...)
 - **Emetteurs α** à longue demi-vie radiologique

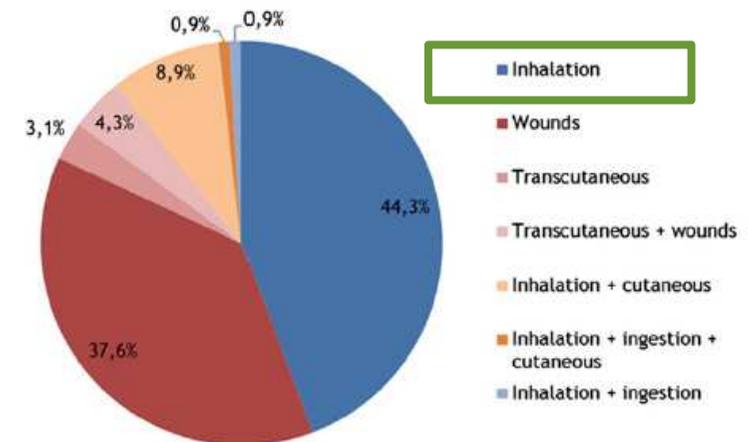
- **Plusieurs voies d'incorporation des radionucléides au poste de travail en cas d'accident :**
 - **Inhalation**
 - Contamination transcutanée, blessure



Exposition par contamination interne : irradiation chronique et localisée de l'organisme → risques de développement à long terme de pathologies radio-induites :

- Déterministes (fibroses)
- Stochastiques (cancers)

➤ **Nécessité de prédire la biodistribution des radioéléments afin d'évaluer leur toxicité**



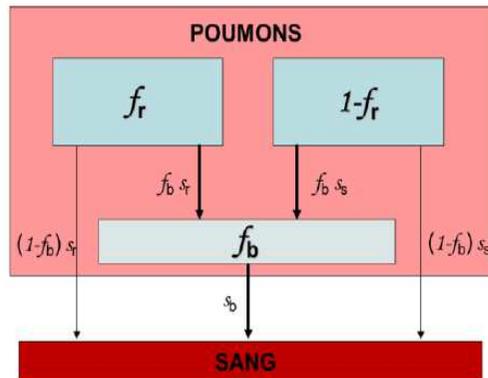
Adapté du Rapport CEA-R-6097 (Grappin et al., 2006)

➤ La biodistribution des actinides dans l'organisme dépend de leur **solubilité**, qui varie selon :

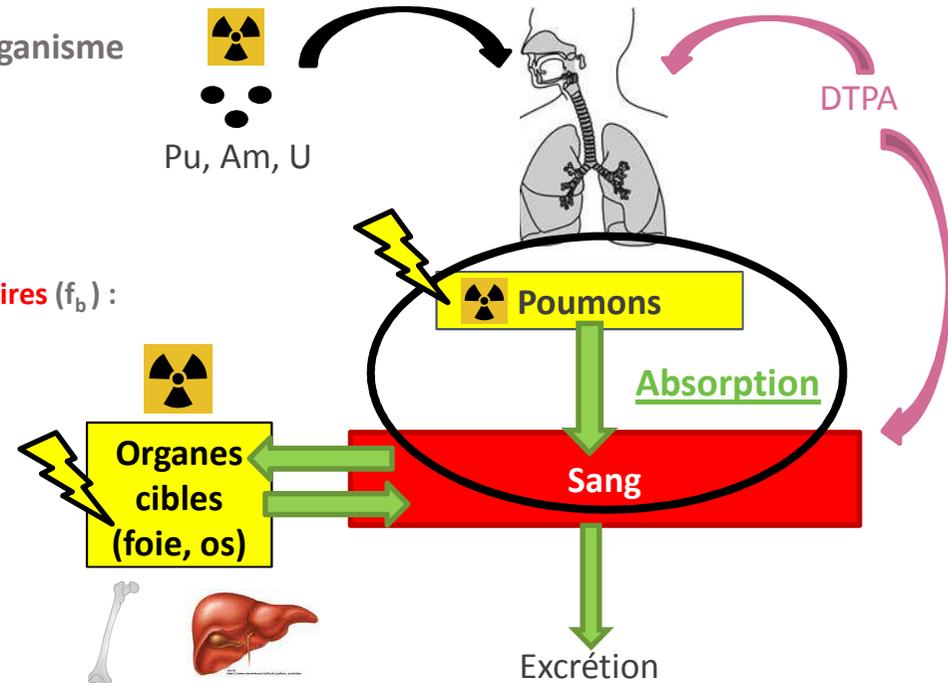
- La **nature** des radioéléments
- Leur **forme physico-chimique initiale**

+ **Liaison** d'une fraction dissoute aux **constituants pulmonaires** (f_b) :

- Ligands biologiques : Transferrine (Tf), Ferritine
- Cellules épithéliales



« Health Respiratory Tract Model », CIPR Publications n°66 (1994) et n° 141 (2015)



Importance de prédire l'absorption des radioéléments pour :

- Le calcul de la dose engagée (évaluation des risques)
- La mise en place d'une stratégie thérapeutique de décontamination (prise en charge médicale)

➤ Absorption dans le sang depuis les poumons en **2 étapes** :

- 1) **Dissolution** des composés
- 2) Franchissement de la barrière épithéliale ←

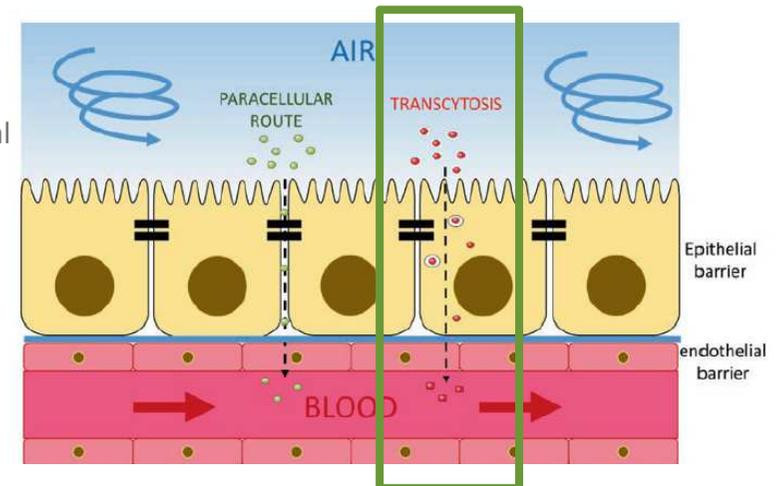
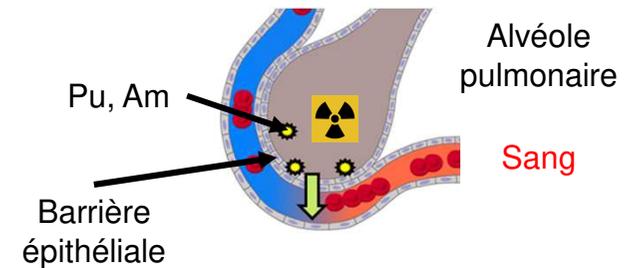
➤ Franchissement de la barrière épithéliale pulmonaire par

- diffusion paracellulaire (jonctions serrées)
- **transcytose** (« voie transcellulaire ») ←

➤ Transcytose en **3 étapes** :

- 1) **Liaison aux cellules épithéliales et internalisation** au pôle apical
- 2) Rétention dans le cytosol → dépôt dose
- 3) Transfert vers le pôle basal et exocytose

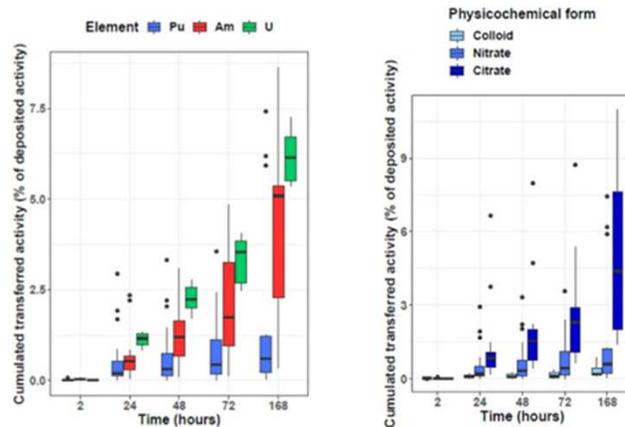
**Cinétique / Mécanismes de liaison et d'internalisation
des actinides par les cellules épithéliales
???**



- 1) Développer un modèle *in vitro* pour **évaluer la liaison et l'internalisation des actinides par les cellules épithéliales pulmonaires**

- 2) Etudier **l'influence de différents paramètres** (nature, forme physico-chimique, complexation aux ligands biologiques,...) sur la liaison et l'internalisation des actinides par les cellules

- Modèle cellulaire *in vitro* : **cellules épithéliales humaines d'origine bronchique Calu-3** (ATCC HTB-55)
- Cellules déjà utilisées pour **l'évaluation du transfert des actinides** à travers la barrière épithéliale pulmonaire
- Bonne corrélation des résultats avec les données observées *in vivo* pour l'absorption des actinides

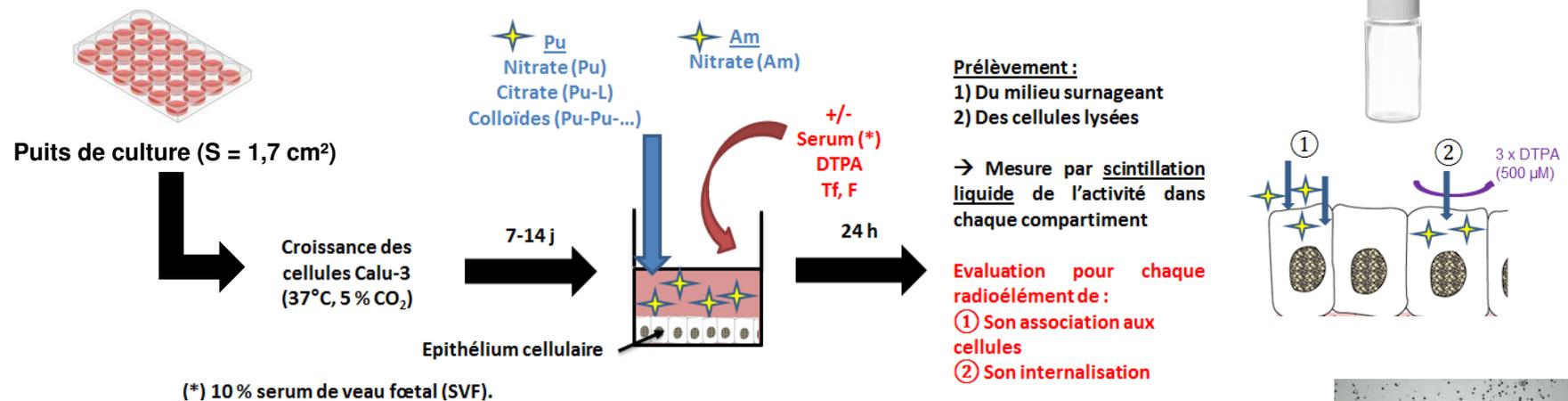


Van der Meeren A, Drouet G, Devilliers K, Laurent D, Moureau A, Feray A, Lamart S.

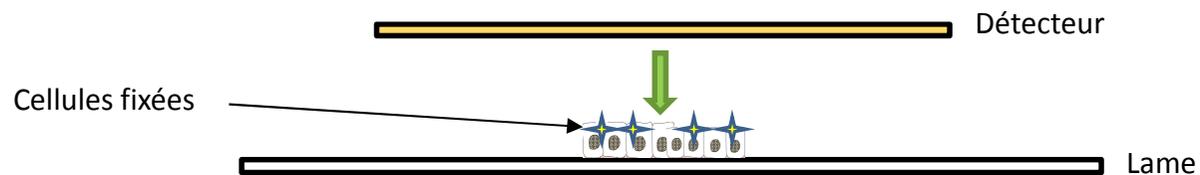
Evidence for a differential translocation of actinides across human lung epithelial cell monolayer *in vitro* according to their physicochemical properties and the presence of a chelating agent.

Toxicol In Vitro. 2021 Feb;70:105035.

➤ **Modèle d'évaluation de l'association des actinides aux cellules épithéliales et de leur internalisation :**

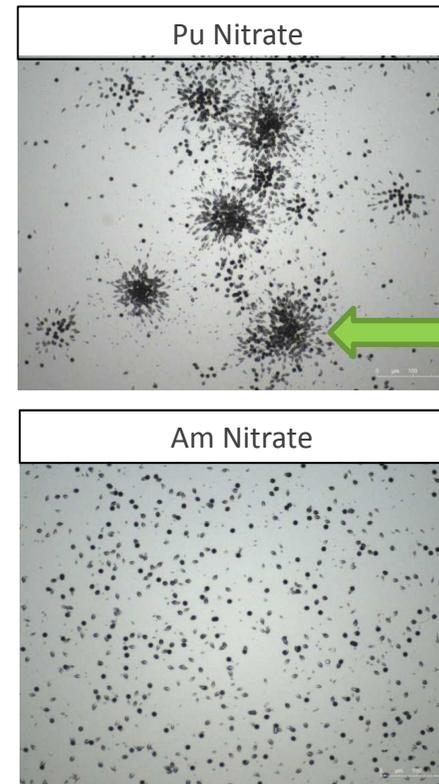
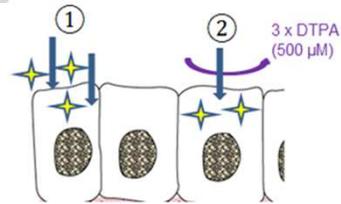
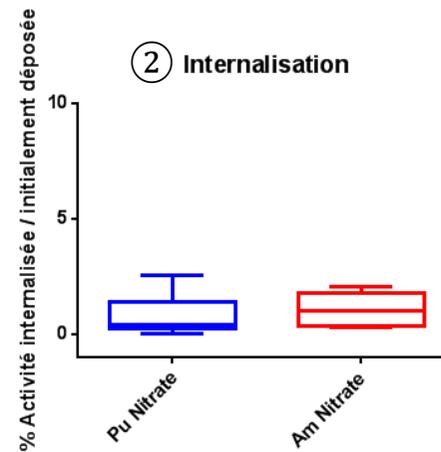
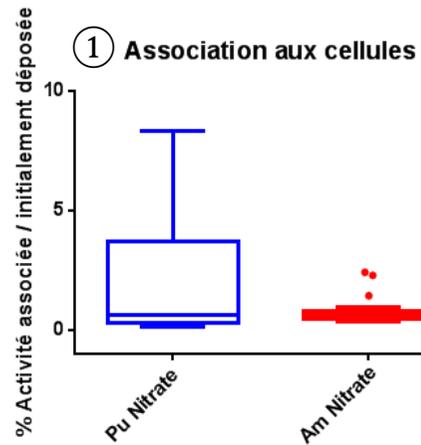


+ Imagerie de l'activité α associée aux cellules : exposition détecteurs de traces solides CR39 (24 h)

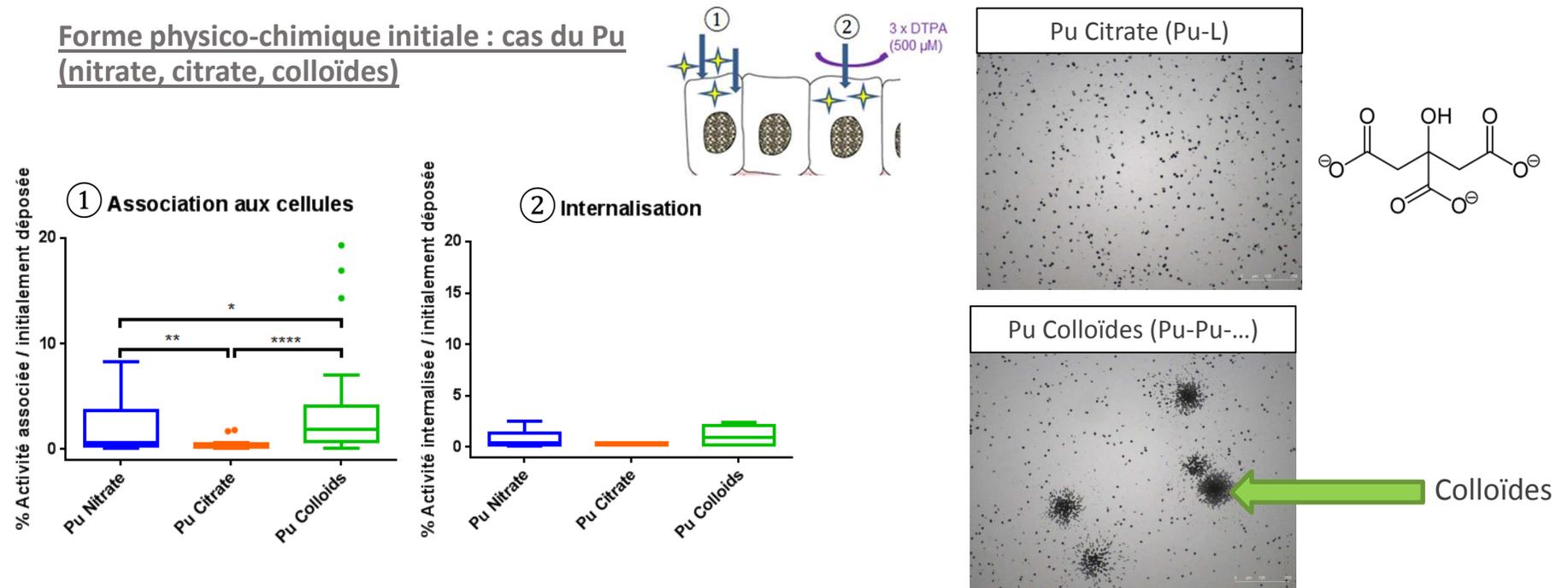


1 point =
1 impact résultant de l'émission d'une
particule α

Nature des actinides : Pu vs Am (nitrate)

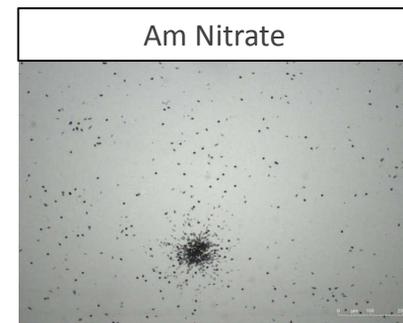
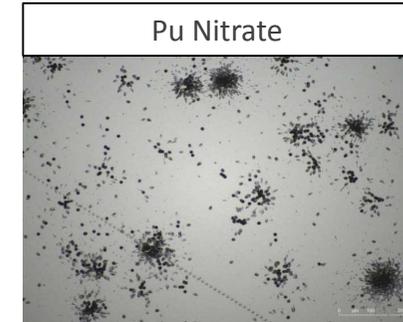
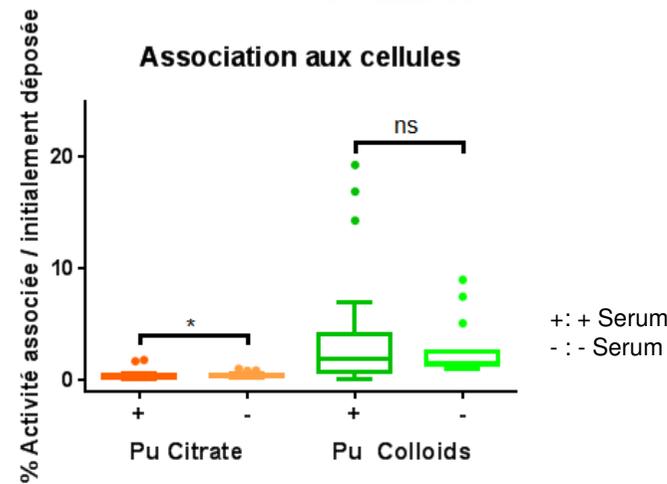
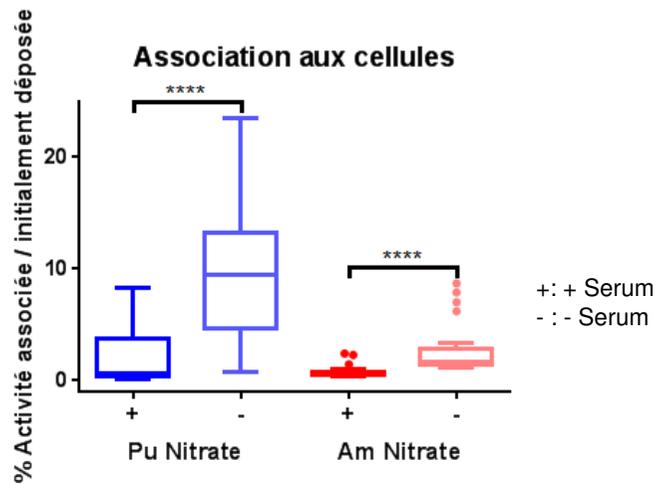
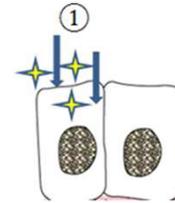


- ▶ Pas d'influence de la nature des actinides sur leur liaison et internalisation par les cellules
- ▶ Réactivité différente des 2 radioéléments en milieu biologique : **agrégation du Pu**



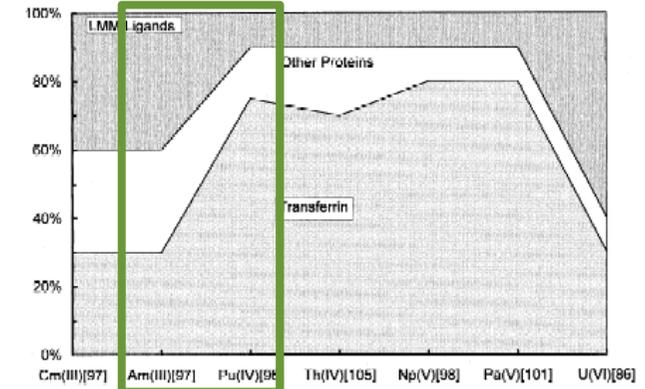
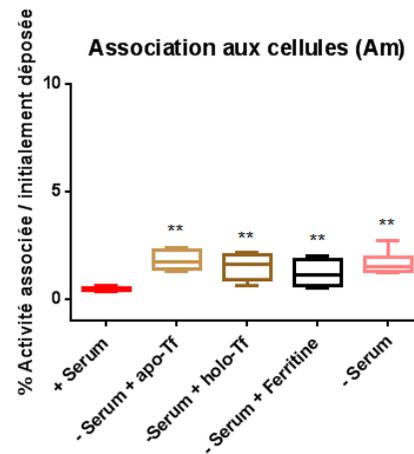
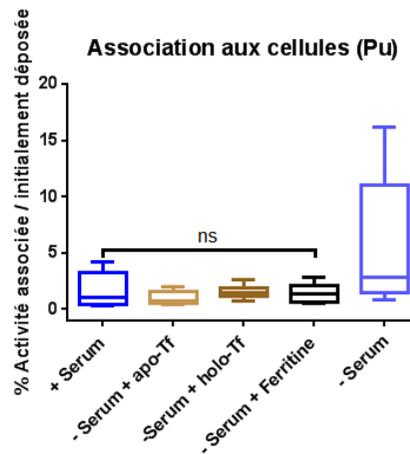
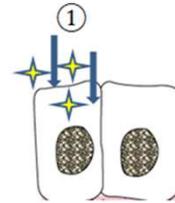
- Influence de la forme physico-chimique du Pu sur son association aux cellules
 - Pas d'influence de la forme physico-chimique du Pu sur son internalisation par les cellules
- **Hypothèse : La forme physico-chimique du Pu a une influence sur sa liaison aux membranes cellulaires seulement**

Influence des ligands biologiques : déplétion en sérum (Pu et Am)



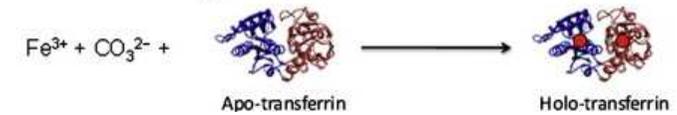
- ▶ Association aux cellules du Pu et de l'Am plus élevée en l'absence de sérum pour les formes nitrate « libres »
- ▶ Pas d'effet du sérum sur l'association des formes "liées" du Pu : citrate (Pu-L) et colloïdes (Pu-Pu-...)
- **Hypothèse : La complexation des actinides par les ligands biologiques du sérum inhibe leur association aux cellules**

Liaison aux ligands biologiques : Transferrine (Tf) et Ferritine en l'absence de sérum (Pu et Am : nitrate)



Source : Taylor (1998)

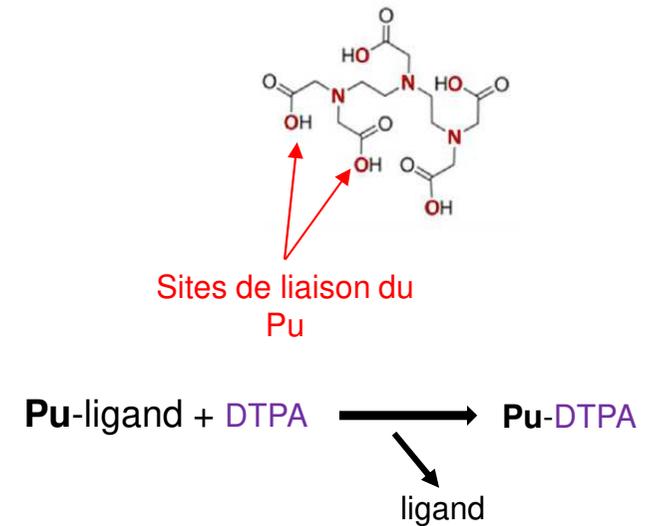
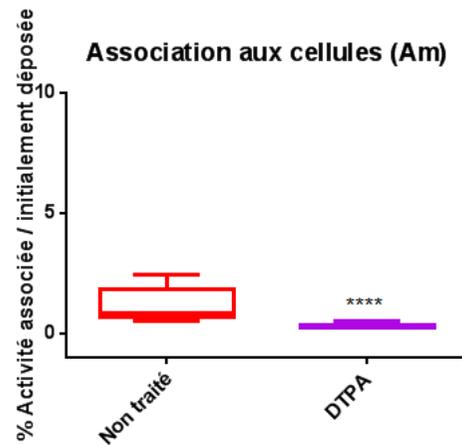
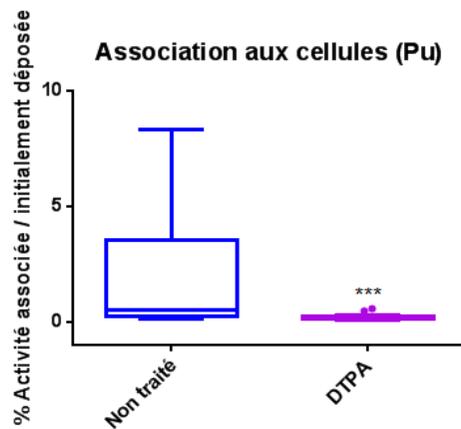
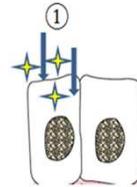
Transferrin Fe³⁺ Binding



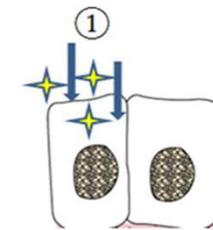
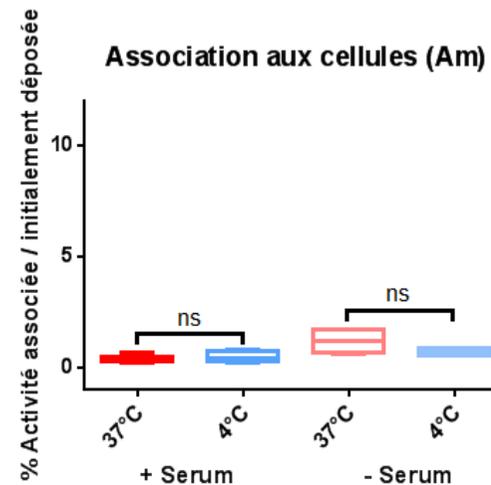
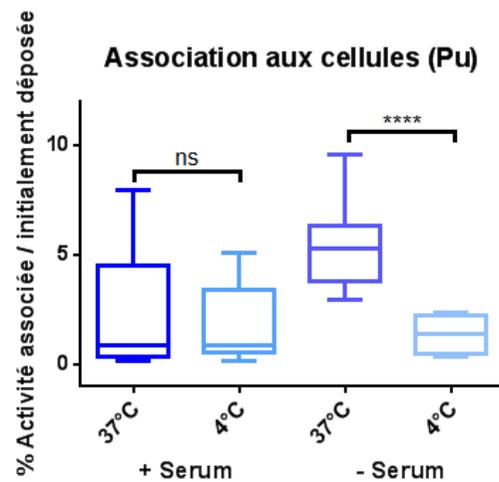
Source : R.J.Hilton et al. (2012)

- ▶ Association du Pu aux cellules similaire en présence de la Tf et de la Ferritine qu'en présence de sérum
 - ▶ Association aux cellules de l'Am plus élevée en présence de la Tf et de la Ferritine qu'en présence de sérum
- **Hypothèse : La Tf et la Ferritine sont des ligands du Pu dans le sérum, mais non de l'Am**

Complexation par un agent chélateur :
exemple du DTPA (Pu, Am : nitrate ± sérum)



- Association plus faible du Pu et de l'Am aux cellules en présence de DTPA (50 μ M)
- **Hypothèse : La complexation des actinides par le DTPA inhibe leur association aux cellules**

Recherche du mécanisme d'internalisation : passif ou actif ? (Pu, Am : nitrate, \pm sérum)

Durée d'incubation : 3 h

- ▶ Association du Pu aux cellules plus élevée à 37°C qu'à 4°C en l'absence de sérum seulement
 - ▶ Pas de différences entre l'association de l'Am aux cellules à 37°C et à 4°C
- Hypothèse : La forme « libre » du Pu serait internalisée par les cellules via un mécanisme actif, alors que ses formes « liées » dans le sérum et l'Am seraient internalisés par des voies passives

- **Identification de 2 compartiments pour l'association des actinides** aux cellules épithéliales :
 - 1) Externe, surfacique (fraction liée aux membranes)
 - 2) Interne (fraction internalisée dans le cytoplasme)

- **Pas d'influence de la nature des actinides sur leur association aux cellules (Pu, Am)**

- **Influence de la forme physico-chimique initiale du Pu sur la fraction liée aux membranes seulement**

- **Inhibition de l'association du Pu et de l'Am aux cellules par complexation** aux ligands biologiques et au DTPA

- **Influence de la nature des actinides (Pu, Am) et de leur complexation** sur leurs mécanismes d'internalisation :
 - Actif : forme « libre » du Pu
 - Passif : Am, formes liées du Pu dans le sérum

Influence de la complexation des actinides aux ligands biologiques sur leur transfert à travers la barrière épithéliale ? → influence sur leur absorption dans le sang au niveau pulmonaire ?



Merci de votre attention

Avez-vous des questions ?



Merci à :

Anne VAN DER MEEREN	Karine DEVILLIERS
Martine DEFRANCE	Bruno REDON
Nina GRIFFITHS	David LAURENT
Olivier GREMY	Fabrice HUET
Loïc DARONNAT	Agnès MOUREAU

L'agence Innovation Défense (AID) pour le soutien financier

Commissariat à l'énergie atomique et aux énergies alternatives - www.cea.fr