

**FICHE SUJET DE THESE**

Sujet N° (à remplir par l'ED) :	FINANCEMENT : <input checked="" type="checkbox"/> Demandé <input type="checkbox"/> Acquis	Origine du financement : Contrat doctoral ordinaire - CDO
Titre de la thèse : <b>Les vésicules extracellulaires comme nouveaux biomarqueurs de l'exposition aux perturbateurs endocriniens dans la progression de la maladie stéatosique du foie</b>		3 mots-clés : polluants foie vésicules extracellulaires
Unité/équipe encadrante : <b>IRSET U1085 / team 3 « Stress, Membrane, Signalisation »</b>		
Directrice ou Directeur de thèse : Corinne Martin-Chouly  Co-directrice : Dominique Lagadic-Gossmann  Co-encadrant : Normand Podechard		N° de tél : 0223234904 Mail : Corinne.chouly@univ-rennes.fr Année de l'HDR ou dérogation HDR : 2010
<p><u>Contexte socioéconomique et scientifique (env. 10 lignes) :</u>          Notre environnement, de l'alimentation à l'air respiré ou aux objets utilisés, contient des molécules chimiques qui peuvent constituer un risque, voire un danger pour la santé humaine. Ainsi, les perturbateurs endocriniens (PE) peuvent altérer l'ensemble des fonctions endocrines qui produisent des hormones essentielles à notre santé. De nombreux questionnements concernent leurs effets chez l'Homme et cela est l'un des problèmes de santé publique les plus importants de ces dernières années. Pour répondre à la politique mise en place par l'Union Européenne visant à réduire les niveaux d'expositions aux PE, il est nécessaire de développer de nouveaux outils d'évaluation de l'impact de ces molécules sur la santé humaine. Dans le cadre du consortium européen OBERON, l'objectif est de construire une stratégie de tests intégrés pour détecter les troubles métaboliques liés aux PE. Ce projet combine des approches expérimentales (<i>in vitro</i> et <i>in vivo</i>), des technologies omiques à haut débit, l'épidémiologie et les études de biosurveillance humaine ainsi que des modèles informatiques avancés sur les paramètres fonctionnels liés au métabolisme. Dans ce contexte, notre équipe est chargée de développer des essais biologiques <i>in vitro</i> sur les hépatocytes humains HepaRG visant à évaluer l'impact de PE dans la progression de pathologies particulières, les NAFLD (Non-Alcoholic Liver Diseases). Les NAFLD regroupent des atteintes hépatiques allant de la stéatose (caractérisée par une accumulation excessive de graisse) à la stéatohépatite (caractérisée par une inflammation et une mort cellulaire, pouvant évoluer vers la cirrhose et le cancer hépatocellulaire). Bien que les mécanismes moléculaires et cellulaires de cette transition ne soient pas entièrement élucidés, l'exposition à des xénobiotiques, dont des PE, est fortement suspectée d'y participer (<i>Tête et al., 2018, 2020</i>). Ainsi, il y a une réelle urgence pour les agences de réglementation (OCDE) de disposer d'outils adéquats pour évaluer l'impact des PE dans ce contexte. Par ailleurs, il a été mis en évidence un rôle majeur des vésicules extracellulaires (VE) en tant qu'acteurs de la communication cellulaire dans la pathogenèse des maladies du foie. Les VE sont des vésicules ayant une double membrane, libérées par les cellules dans l'environnement extracellulaire. Notre équipe a développé une expertise dans l'analyse des VE produites par différents types cellulaires exposés à des xénobiotiques. Le contenu de ces VE peut avoir un impact sur les fonctions de cellules réceptrices; de plus, des données de la littérature indiquent que ce contenu pourrait permettre de suivre la progression des NAFLD. Ainsi, les VE pourraient servir de nouveaux biomarqueurs d'effets métaboliques des PE.</p>		
<p><u>Hypothèses et questions posées (env. 8 lignes) :</u>          Les PE regroupent plusieurs centaines de composés se définissant par leur capacité à interférer à quelques niveaux que ce soit avec l'action d'une hormone ; parmi eux, certains sont capables d'augmenter la susceptibilité aux désordres métaboliques (NAFLD, diabète, obésité). Dans un contexte proche, notre équipe a déjà démontré que l'exposition à certains xénobiotiques (hydrocarbure/alcool ou phtalate/alcool) favorisait la transition de la stéatose vers la stéatohépatite. Pour autant, il reste essentiel d'évaluer plus précisément l'impact des PE dans les NAFLD mais aussi de mieux comprendre quels sont les mécanismes moléculaires et cellulaires qui interviennent dans les effets délétères de ces molécules. Dans ce contexte, les objectifs principaux de cette thèse sont : 1) le développement et la validation d'approches <i>in vitro</i> d'évaluation des effets des PE sur les NAFLD (non-alcoholic liver diseases) dans le modèle HepaRG. 2) d'analyser les effets de ces PE sur la production des VE par les HepaRG. 3) de tester l'influence des VE issues des HepaRG traitées par les PE sur les dommages hépatiques dans la larve de poisson zèbre et le phénotype les macrophages en culture (inflammation, mort cellulaire,...).</p>		
<p><u>Grandes étapes de la thèse (env. 12 lignes) :</u>          Ce projet de thèse vise principalement à évaluer l'impact des PE dans les NAFLD et en déterminer les mécanismes d'actions tout en cherchant à développer des tests <i>in vitro</i> de criblage des effets de perturbations métaboliques des PE sur le foie en utilisant les hépatocytes humains en culture HepaRG. Pour répondre à cet enjeu, ce travail comportera 3 étapes. La première étape sera d'évaluer le potentiel des PE à induire une stéatose en mesurant le métabolisme lipidique dans les HepaRG (Seahorse/acide palmitique, dosage de triglycérides, Nile Red, EROD) et de comparer les effets des PE avec une supplémentation en acides gras ou d'amiodarone (inducteurs de stéatose dans les HepaRG). Dans la seconde étape nous étudierons les effets de ces PE sur la production des VE par les HepaRG en condition de stéatose ou non (ultrastructure par microscopie électronique, taille et quantité par NTA (nanoparticle tracking analysis), contenu protéique par Western blot et cytométrie, contenu lipidique par dosage du cholestérol). L'inflammation ayant un rôle central dans la progression des NAFLD, dans la troisième étape, nous exposerons des larves de poisson-zèbre et des macrophages aux VE produites par les HepaRG stéatosés pour étudier les fonctions de ces macrophages, phagocytose (kit bactérie fluorescente) et production de marqueurs inflammatoires (ELISA, qPCR).</p>		
<p><u>Compétences scientifiques et techniques requises par le-la candidat-e (2 lignes) :</u>          Le candidat devra avoir un Master 2 dans le domaine Biologie-Santé (ou équivalent) et de préférence avoir une expérience sérieuse dans le domaine de la toxicologie. Il devra avoir un bon niveau général en biologie cellulaire (métabolisme lipidique, trafic intracellulaire, inflammation) et de bonnes compétences en culture cellulaire. Il devra avoir un sens élevé de l'organisation, une forte aptitude au travail en équipe (interaction, coordination, proposition, dynamisme) tout en étant capable de travailler de manière autonome, de bonnes capacités à synthétiser et présenter les résultats scientifiques (communication) et une bonne maîtrise de l'anglais.</p>		
<p><u>3 publications de l'équipe d'accueil relatives au domaine (5 dernières années) :</u>          Tête A*, Gallais I*, Imran M, Martin-Chouly C, Sparfel L, Bescher M, Sergent O*, Podechard N*, Lagadic-Gossmann D*. MEHP/ethanol co-exposure favors the death of steatotic hepatocytes, possibly through CYP4A and ADH involvement. Food Chem Toxicol, 2020. 146 : 111798.           van Meteren N, Lagadic-Gossmann D, Chevanne M, Gallais I, Gobart D, Burel A, Bucher S, Grova N, Fromenty B, Appenzeller BMR, Chevance S, Gauffre F, Le Ferrec E, Sergent O. Polycyclic aromatic hydrocarbons can trigger hepatocyte release of extracellular vesicles by various mechanisms of action depending on their affinity for the aryl hydrocarbon receptor. Toxicological Sciences, 171 : 443-462, 2019.           Le Goff M, Lagadic-Gossmann D, Latour R, Podechard N, Grova N, Gauffre F, Chevance S, Burel A, Appenzeller BMR, Ulmann L, Sergent O, Le Ferrec E. PAHs increase the production of extracellular vesicles both <i>in vitro</i> in endothelial cells and <i>in vivo</i> in urines from rats. Environmental Pollution, 255 :113171 p., 2019.</p>		
<p><u>Collaborations nationales et internationales :</u></p>		

- Department of Cytokinetics, Institute of Biophysics of the Czech Academy of Sciences, Brno, République Tchèque – Jan Vondracek (projet européen Oberon)
  - RECETOX, Faculty of Science, Masaryk University, Kamenice, Brno, République Tchèque – Pavel Babica (projet européen Oberon)
  - Instituto de Investigación, Desarrollo e Innovación en Biotecnología Sanitaria de Elche (IDiBE), Universitat Miguel Hernández, Elche, Espagne – Alonso-Magdalena Paloma (projet européen Oberon)
  - STLO – Agrocampus INRAE (Université de Rennes 1) - Dr E Guédon (NTA, vésicules extracellulaires)
  - UMR CNRS 6226 Institut des Sciences Chimiques de Rennes- Dr F Gauffre (NTA, vésicules extracellulaires)
  - IRSET Inserm U1085 (Université de Rennes 1) – équipe 5'Dynamique du microenvironnement et cancer'– Dr Sophie Langouet (projet européen Oberon)
- Inserm UMR S-1124 "T3S, Environmental Toxicology, Therapeutic Targets, Cellular Signaling and Biomarkers", Paris – Dr Xavier Coumoul et Dr Karine Audouze (projet européen Oberon)