

Madame Sara WELLENS

Sciences de la Vie

Soutiendra publiquement ses travaux de thèse intitulés

Modèles in vitro de barrière hémato-encéphalique (BHE) dérivés d'IPSCs et applications à l'évaluation de la toxicité des composés chimiques

dirigés par Monsieur Maxime CULOT

Soutenance prévue le **jeudi 24 juin 2021** à 9h00

La soutenance de thèse se déroulera entièrement en visioconférence.

Composition du jury proposé

M. Maxime CULOT	Université d'Artois	Directeur de thèse
M. Winfried NEUHAUS	AIT Austrian Institute of Technology GmbH, Molecular Diagnostics, Center for Health & Bioresources	Rapporteur
M. Mathieu VINKEN	Vrije Universiteit Brussel, Department of Pharmaceutical and Pharmacological Sciences, Rapporteur In Vitro Toxicology Team	Rapporteur
Mme Laurence TILLOY- FENART	Université d'Artois	Examinatrice

Résumé :

Ces travaux de thèse ont été réalisés dans le cadre du projet européen in3 (MSCA-ITN), qui visait à renforcer l'utilisation de méthodes alternatives à l'expérimentation animale (i.e. modèles in vitro et in silico) pour l'évaluation de la toxicité des composés chimiques. Pour atteindre cet objectif, des cellules souches humaines pluripotentes (hiPSC) ont été différenciées en différents types cellulaires, représentant des cibles toxicologiques: macrophages alvéolaires (MAC), cellules endothéliales des capillaires cérébraux (BBB), sphères cérébrales (BS), cellules endothéliales (EC), hépatocytes (HC), cellules épithéliales pulmonaires (AE), monocytes (MON), précurseurs neuronaux (NC), podocytes (PODO) et les cellules tubulaires proximales (PT), dans différents laboratoires Européens. L'exposition de ces différentes cellules aux mêmes composés suivi d'un séquençage ciblé de leurs ARNm (TempO-Seq), a permis d'étudier la variabilité de la réponse toxique dans les différents modèles. Ces données visent à anticiper les éventuelles perturbations liées à des expositions aux substances chimiques via la caractérisation détaillée des voies de toxicité conduisant à des effets néfastes (Adverse Outcome Pathway ou AOP). Pour comprendre et étudier l'effet des différents protocoles de différenciation des iPSC employés, les données de l'analyse transcriptionnelle d'échantillons témoins non traités de chaque modèle ont été comparées. L'analyse en composantes principales (PCA) a permis d'identifier les différents modèles comme des groupes clairement distincts et de faire apparaître une répartition des différents modèles entre les couches germinales correspondant aux types de cellules cibles visés : ectoderme (BS et NC), mésoderme (EC, MAC, MON, BBB, PT et PODO) et endoderme (HC et AE). L'analyse de l'expression différentielle (DESeq2), a permis d'identifier les gènes les plus fortement exprimés dans chaque type cellulaire. La pertinence de ces gènes dans la situation in vivo et leur utilisation potentielle comme biomarqueurs pour chacune de ces différenciations restent à approfondir. Plus généralement, avec l'émergence de multiples protocoles de différenciation à partir d'hiPSC, la caractérisation de la pertinence de ces modèles vis à vis de leur contrepartie in vivo reste une préoccupation majeure. Dans ce manuscrit, la possibilité d'utiliser des données transcriptomiques pour caractériser les modèles de barrière hémato-encéphalique (BHE) dérivés d'hiPSC est discutée. Depuis les travaux initiaux de Lippmann et al. en 2012 différents protocoles de différenciation d'hiPSC en cellules de BHE ont vu le jour. Dans la plupart des cas, la caractérisation des cellules obtenus à l'aide de ces protocoles s'est concentrée sur plusieurs caractéristiques importantes des cellules endothéliales de la BHE comme l'expression de marqueurs endothéliaux, la fonctionnalité de transporteurs d'efflux et la formation de jonctions serrées. Dans le cadre de cette thèse, la possibilité d'utiliser un modèle BHE dérivé de l'hiPSC pour évaluer les effets d'un traitement à doses répétées a été étudiée, en utilisant la ciclosporine A (CsA) comme composé modèle. Ce modèle s'est avéré présenter des caractéristiques de BHE jusqu'à 15 jours après la fin de la différenciation et s'est avéré approprié pour évaluer les effets d'un traitement à doses répétées. Malgré que les variations d'expression transcriptionnelles se poursuivent après la fin de la différenciation, l'analyse par TempO-Seq a révélé une activation dépendante du temps de traitement et de la concentration de CsA, des voies de réponse au stress ATF4, XBP1, Nrf2 et p53. En conclusion, bien qu'une comparaison avec un matériel de référence approprié soit nécessaire pour la caractérisation en profondeur du modèle de BHE dérivé d'hiPSC, ces modèles sont prometteurs afin d'étudier les effets toxiques des composés chimiques chez l'homme.