

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'Energie Atomique et aux Energies Alternatives (CEA)
Laboratoire de RadioToxicologie (LRT)
91297 Arpajon, FRANCE
guillaume.drouet@cea.fr

Une contamination interne par inhalation d'actinides transuraniens comme le plutonium (Pu) ou l'américium (Am) peut survenir dans le cadre de leur dispersion accidentelle sous forme d'aérosols suite à la rupture d'une enceinte de confinement nucléaire. L'irradiation chronique et localisée de l'organisme par les radioéléments internalisés peut induire à long terme le risque de développement de pathologies radio-induites déterministes (fibroses) et stochastiques (cancers). La connaissance de la biodistribution des actinides est ainsi un prérequis important pour l'estimation de la dose engagée et la mise en place d'une stratégie thérapeutique. Celle-ci consiste actuellement en l'administration d'un agent chélateur des actinides, l'acide diéthylène triamine pentaacétique (DTPA), qui permet d'accélérer leur décorporation et de limiter ainsi le cumul de la dose radiologique délivrée aux tissus.

Le devenir biologique des actinides inhalés dépend de la solubilité de leur forme physico-chimique initiale. Les composés insolubles sont phagocytés par les macrophages et retenus au niveau des poumons, tandis que la fraction dissoute est absorbée dans la circulation sanguine pour être transférée à leurs organes cibles (foie, os). Une fraction des actinides dissous demeure également retenue au niveau pulmonaire du fait de sa liaison aux cellules et aux ligands biologiques disponibles [1], comme potentiellement les protéines Transferrine (Tf) ou Ferritine [2]. La compréhension de la cinétique d'absorption pulmonaire des actinides et des mécanismes impliqués dans celle-ci est ainsi importante pour l'évaluation des risques associés à l'inhalation de ces radionucléides.

L'absorption des actinides s'effectue par translocation à travers la barrière épithéliale respiratoire, dont les cellules souches (pneumocytes-II) constituent au niveau des poumons les cellules cibles à l'origine des cancers. Si la biocinétique d'absorption des différentes formes physico-chimiques des actinides a été étudiée *in vivo*, les mécanismes de transfert de celles-ci à travers l'épithélium pulmonaire n'ont cependant, à notre connaissance, pas été identifiés [3]. Les voies d'internalisation de Pu et d'Am par les cellules épithéliales ne sont pas connues, bien que l'implication de la Transferrine (Tf) et la Ferritine (F) dans celles-ci soient suspectées [4].

Nous avons démontré dans une étude précédente que la lignée cellulaire Calu-3 d'origine bronchique pouvait être utilisée comme modèle *in vitro* pour mimer l'absorption au niveau pulmonaire des actinides [5]. L'objectif de cette nouvelle étude est d'évaluer *in vitro* l'internalisation par les cellules Calu-3 de différentes formes physico-chimiques des actinides afin d'améliorer la compréhension des différences observées *in vivo* pour leur absorption. L'influence des ligands biologiques protéiques sur l'internalisation des radioéléments a également été étudiée afin de mieux comprendre leur implication dans l'absorption des actinides au niveau pulmonaire.

Afin d'évaluer l'influence des propriétés physico-chimiques des actinides sur leur internalisation par les cellules, nous avons d'abord comparé l'internalisation de Pu et de l'Am initialement présents sous forme « nitrate », et étudié l'influence de la forme physico-chimique initiale de Pu (nitrate, citrate, colloïdes) sur son internalisation. Dans la suite de notre étude, nous nous sommes intéressés à l'influence de la complexation des actinides aux ligands biologiques, en particulier la Tf et la Ferritine, sur leur internalisation. Enfin, l'internalisation de Pu et d'Am par les cellules a également été évaluée en cas d'ajout d'un traitement DTPA.

Nos résultats ne montrent pas de différences dans l'internalisation de Pu et d'Am nitrate par les cellules après 24 h d'incubation en présence de sérum. L'internalisation de Pu ne diffère pas non plus significativement entre les 3 différentes formes physico-chimiques initiales étudiées (nitrate, citrate, colloïdes), malgré des différences importantes observées dans la liaison de celles-ci aux membranes cellulaires. Cependant, l'internalisation de la forme nitrate « libre » de Pu et d'Am est significativement plus élevée en l'absence de protéines sériques dans le milieu, ce qui suggère que la liaison des actinides avec des ligands protéiques inhiberait leur internalisation par les cellules. L'internalisation des actinides par les cellules était également significativement plus faible en cas d'ajout d'un traitement DTPA.

Nos résultats suggèrent ainsi de manière générale que le plutonium et l'américium liés dans le milieu à des ligands protéiques (Tf, F) ou organiques (citrate, DTPA) seraient moins internalisés par les cellules épithéliales que leurs formes « libres » potentiellement liées aux ions inorganiques du milieu (carbonate, phosphate). Les différences d'affinité de Pu et d'Am pour la Tf et la Ferritine, ainsi que l'influence de la complexation des actinides par les protéines sur leurs mécanismes d'internalisation par les cellules sont également discutées.

1. ICRP, 1994. Human Respiratory Tract Model for Radiological Protection. ICRP Publication 66. Ann. ICRP 24 (1-3).
2. Ansoberlo E, Prat O, Moisy P, Den Auwer C, Guilbaud P, Carriere M, Gouget B, Duffield J, Doizi D, Vercouter T, Moulin C, Moulin V. Actinide speciation in relation to biological processes. *Biochimie*. 2006 Nov;88(11):1605-18. doi: 10.1016/j.biochi.2006.06.011. Epub 2006 Jul 26. PMID: 16996675.
3. ICRP, 2019. Occupational intakes of radionuclides: Part 4. ICRP Publication 141. Ann. ICRP 48(2/3).
4. Jensen MP, Gorman-Lewis D, Aryal B, et al. An iron-dependent and transferrin-mediated cellular uptake pathway for plutonium. *Nat Chem Biol*. 2011;7(8):560-565. Published 2011 Jun 26. doi:10.1038/nchembio.594
5. 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. doi: 10.1016/j.tiv.2020.105035. Epub 2020 Oct 22. PMID: 33132172.