DIPLÔME NATIONAL DE DOCTORAT

(Arrêté du 25 mai 2016)

Date de la soutenance : **24 avril 2017**

Nom de famille et prénom de l'auteur : **Elodie METRAL**

Titre de la thèse :

RÉSUMÉ DE THÈSE :

La peau est quotidiennement exposée aux rayons UV du soleil dont les UVA qui atteignent la couche basale de l'épiderme, composée de cellules souches kératinocytaires (KSC) et de cellules progénitrices appelées communément les cellules d'amplification transitoire (TA). Les KSC et TA, responsables du renouvellement de l'épiderme, sont particulièrement vulnérables à l'action des agents génotoxiques et plus particulièrement aux rayonnements UV. En effet, Les KSC normalement quiescentes mais constituant la réserve de cellules souches tout au long de la vie de l'organisme, comme les TA, sont des cibles préférentielles pour la photocarcingénèse et le photovieillissement cutanés. Dans ce contexte, le but du projet était de développer une méthode capable d'isoler les KSC et les TA afin de caractériser leur réponse biologique vis-à-vis des UVA et dans un objectif plus industriel, de valoriser un actif photoprotecteur et/ou génoprotecteur par l'investigation de ses mécanismes d'action. Un objectif parallèle était de définir des conditions de culture optimales pour garder le phénotype souche des KSC en culture, qui est rapidement perdu dès leur entrée en prolifération. Ainsi, nous avons montré que l'ajout des cellules souches adipeuses (ASC) aux fibroblastes d'une peau reconstruite (PR), pour reproduire l'environnement des KSC, augmente significativement l'épaisseur de l'épiderme et surtout préserve les kératinocytes de leur entrée en sénescence, en partie via par l'augmentation de la prolifération des fibroblastes au niveau du derme et potentiellement par un effet synergique des facteurs solubles sécrétés par la combinaison des ASC/fibroblastes. Afin de comparer le comportement des KSC à celui des TA nous avons donc tout d'abord optimisé la méthode d'adhésion rapide, puis l'avons comparée au tri par cytométrie de flux selon le phénotype alpha6^{high}/CD71^{low}, qui s'est avérée plus efficace. Les KSC (alpha6^{high}/CD71^{low}) et les TA (alpha6^{high}/CD71^{high}) ont ensuite été irradiés aux UVA. Les KSC ont montré une photorésistante plus importante que les TA avec une viabilité cellulaire et un potentiel clonogénique supérieurs ainsi qu'une meilleure capacité à reconstruire un épiderme pluristratifié *in vitro*. Nous avons aussi recherché les mécanismes de résistance. Nos résultats démontrent que l'induction des 3 types de dommages à l'ADN immédiatement après irradiation est identique pour les deux populations mais que la réparation des cassures simple brin (SSB) et des dimères de pyrimidine (CPDs) est plus rapide pour les KSC. Enfin, PE1, actif préselectionné par Gattefossé, a été caractérisé pour son effet photoprotecteur et génoprotecteur. Nous avons montré que PE1 était capable de (i) préserver la capacité des kératinocytes à former des holoclones après irradiation, (ii) diminuer les lésions à l'ADN, notamment la 8oxoG et les CPDs (iii) améliorer l'expression de plusieurs gènes de réparation de l'ADN. Pour conclure, ce travail de thèse a montré pour la première fois que les KSC (alpha6^{high}/CD71^{low}) sont plus résistantes vis-à-vis des UVA que les TA (alpha6^{high}/CD71^{high}) notamment grâce à des systèmes de réparation de l'ADN plus actifs dans les KSC et a permis d'identifier un extrait végétal (PE1) capable de protéger le génome des kératinocytes proliférants contre les UVA.