

## **Titre de thèse : Rôle de l'oxygénation et des microARNs dans le photovieillissement de la peau.**

### **Résumé**

Le microenvironnement cutané conditionne l'activité des cellules de la peau, leur permettant de maintenir une homéostasie en conditions physiologiques et, ainsi, d'assurer les différentes fonctions de cet organe (protection, immunité, thermorégulation, toucher...). Le stress oxydant, essentiellement dû au photovieillissement de la peau sous l'effet des rayons UVs et au contact avec des polluants, est le facteur principal affectant à la fois l'aspect et les propriétés de la peau avec l'âge. Il affecte les cellules mais aussi leur microenvironnement, conduisant à une dégradation des composants moléculaires qui induit des pertes de fonctions pouvant aller jusqu'au développement de cancers. Le stress oxydant est intimement lié à la disponibilité de l'oxygène dans le microenvironnement cutané. Or il a été montré que, dans des conditions physiologiques, le taux d'oxygène dans la peau (physioxie) est très faible, notamment dans l'épiderme (1,5-3% O<sub>2</sub>), et que, avec l'âge, ce taux diminue encore. Pourtant, toutes les études *in vitro* publiées à ce jour portant sur les mécanismes du photovieillissement sont faites dans des conditions de suroxygénation (normoxie = taux d'oxygène atmosphérique, 21%O<sub>2</sub>) par rapport au taux d'oxygène physiologique.

Ces dernières années, notre groupe a montré que l'expression de certaines protéines était modulée par le taux d'oxygène et a mis en évidence l'importance de maintenir des conditions de physioxie *in vitro* afin de reproduire au mieux le microenvironnement cutané. En particulier l'étude des microARNs montre un profil d'expression drastiquement différent selon l'oxygénation du microenvironnement. Récemment, en maintenant *in vitro* des lignées de kératinocytes et mélanocytes dans les conditions de physioxie, nous avons identifié plusieurs microARNs comme acteurs potentiels dans le photovieillissement cutané. Cependant, l'utilisation de lignées présente des limites et ne permet pas d'évaluer les mécanismes mis en jeu dans des modèles plus proches de la peau tels les modèles 3D.

Les objectifs de ce projet visent à étudier les mécanismes moléculaires régulant le stress oxydant dans les cellules cutanées en conditions de physioxie et en particulier l'implication des microARNs. Ce projet se divise en 3 parties :

#### 1 - Etablissement des modèles cellulaires

Le projet commencera par la mise en place de modèles cellulaires de peau (2D, 3D) en conditions de physioxie ainsi que leur caractérisation (collaboration UDEAR, Toulouse). Deux protocoles de photovieillissement par irradiation UV seront mis en place : un protocole ponctuel et un protocole répété pour mimer le processus sur un temps plus long.

#### 2 – Analyse du stress oxydant et des défenses anti-oxydantes

Cette année (stage Master2), nous avons montré que les défenses anti-oxydantes des kératinocytes sont modulées par le taux d'oxygène environnant. Nous confirmerons ces résultats et étudierons la mise en place de ces défenses antioxydantes dans les cellules soumises à un protocole de photovieillissement conduit en physioxie. La production d'espèces réactives de l'oxygène sera suivie en comparant les modèles cellulaires en normoxie et en physioxie, puis suite aux protocoles d'irradiation UVs. Les défenses antioxydantes seront évaluées par l'expression, le dosage et l'activité des enzymes (SODs, catalase, Glutathion peroxydases), le dosage du glutathion.

#### 3 – Etude de la signalisation cellulaire et de l'implication des microARNs

Très récemment, dans les cellules endothéliales, une étude a montré une relation entre le taux d'oxygène environnant et la voie Keap1/Nrf2/ARE impliquée dans les défenses antioxydantes. Nous étudierons cette voie dans nos modèles cellulaires de peau en physioxie, en relation avec le point 2. D'autre part, pour approfondir nos travaux sur les microARNs, nous suivrons l'expression du miRnome dans notre modèle de photovieillissement afin d'identifier les principaux microARNs modulés par le photovieillissement en conditions de physioxie. Les microARNs sélectionnés seront validés et leur cibles déterminées.

Le but de ce projet de thèse est comprendre la régulation du stress oxydant dû au photovieillissement dans le microenvironnement cutané qui est pauvre en oxygène, de construire des modèles cellulaires permettant ces études, d'identifier des cibles pertinentes dans le but de prévenir/limiter les conséquences du photovieillissement.